

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA

Studijní program:

Geologie

Studijní obor:

Praktická geobiologie



Kateřina Burkartová

Mikroorganismy jako primární producenti v ekosystémech
nezávislých na fotosyntéze

Microorganisms as the primary producers in photosynthesis-
independent ecosystems

Bakalářská práce

Školitel: Mgr. Lukáš Falteisek

Praha, 2013

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 17. 5. 2013

Kateřina Burkartová



Děkuji svému školiteli Lukáši Falteiskovi za užitečné připomínky a rady při směřování mé práce správným směrem a za jeho geologické nadšení. Dále děkuji Doc. Ivo Konopáskovi za vysvětlení náležitých formalit a Doc. Antonu Markošovi za inspiraci při hledání tématu. Za výše vyobrazenou ilustraci patří dík Marušce Mikašnické.

ABSTRAKT

Chemolitotrofie a fotoautotrofie představují dva základní metabolické principy primární produkce organické hmoty na Zemi. Tato práce se zaměřuje na problematiku metabolické provázanosti chemolitotrofních a oxygenně fototrofních mikroorganismů v globálním měřítku. Oxygenní fotosyntéza je příčinou vysoké koncentrace kyslíku v atmosféře, obsahu sulfátů v mořské vodě a jiných oxidantů, které jsou hojně využívány chemolitotrofy při oxidaci anorganických redukovaných sloučenin. Otázkou však je, zda existují chemoautotrofní ekosystémy, které čerpají energii pouze ze substrátů vzniklých abiotickými procesy. Prokázání jejich existence vyžaduje jak geochemické, tak metagenomické přístupy, které přispějí k odhalení původu substrátů respektive metabolismu, který tyto substráty ve zkoumaném ekosystému využívá. V současnosti jsou známy dva dobře podložené typy ekosystémů nezávislých na fotosyntéze, využívajících jako zdroj energie serpentizační vývěry a radiolýzu vody. Užitečným vodítkem pro hledání takových prostředí je zejména absence fotosyntézou vzniklých finálních akceptorů elektronů pro chemolitotrofní metabolismus a patřičné prostorové oddělení od oblastí s výskytem fotosynteticky vzniklých organických látek a oxidantů. Předmětem této práce je popsat geologické procesy, které produkují nejen dostatečné množství zdrojů energie, ale především oxidantů pro mikrobiální respiraci a zároveň posoudit, zda je prostředí dostatečně izolované od vlivu fotosyntézy. Lepší porozumění této problematice upřesní představy o primární produkci v redukčních podmínkách archaika, pomůže při odhalování charakteru současné podpovrchové biosféry na Zemi nebo lépe vymezí potenciální habitaty pro extraterestrický mikrobiální život.

KLÍČOVÁ SLOVA: geomikrobiologie, chemolitotrofie, podzemní vody, primární produkce, extrémofilní organismy

ABSTRACT

Chemolithotrophy and photoautotrophy are the two basic principles of primary production on Earth. This thesis focuses on the relation between chemolithotrophic and oxygen-productive photosynthetic microorganisms in a global dimension. There are high atmospheric oxygen concentration, high sulfate in seawater and other oxidants because of oxygen-productive photosynthesis. These compounds are commonly consumed by chemolithotrophs to oxidize reduced inorganic compounds. It is a question, if there are chemoautotrophic ecosystems profiting only from abiotically derived substrates. It is essential to combine geochemical and metagenomic approaches in order to enhance both establishing of the origin of substrates and assessing the metabolism which utilizes them in the tested ecosystem respectively. Two well established types of photosynthetic independent ecosystems that use serpentinization hydrothermal venting and radiolysis of water as a source of energy are known at present time. The absence of photosynthesis-derived final electron acceptors for chemolithotrophy and the proper spatial separation from areas where photosynthetically derived organic matter and oxidants are present can be a useful clue for this investigation. The goal of this thesis is to describe geological processes which provide not only sufficient amount of energy sources but primarily also some oxidants for microbial respiration. At the same time the adequate separation from photosynthetically influenced environments needs to be assessed. A better understanding of this problem will clarify the speculations about primary production in reductive conditions in the Archean and will help to describe the present subsurface biosphere on Earth or to define potential habitats for extraterrestrial life.

KEYWORDS: geomicrobiology, chemolithotrophy, groundwater, primary production, extremophiles

OBSAH

PROHLÁŠENÍ.....	2
PODĚKOVÁNÍ	3
ABSTRAKT (ČESKY).....	4
ABSTRACT (ENGLISH)	5
OBSAH.....	6
ÚVOD	7
1. ROZSAH PODPOVRCHOVÉ BIOSFÉRY	8
1.1. VRTNÉ PROGRAMY A PROZKOUMANOST LITOSFÉRY	8
1.2. FYZIKÁLNÍ PARAMETRY ŽIVOTA A DOSTUPNOST VOLNÉ ENERGIE	9
1.2.1. TEPLOTA JAKO HLAVNÍ OMEZUJÍCÍ FAKTOR ŽIVOTA NA ZEMI	9
2. CO JE SLIME?.....	10
2.1. SLIME – EKOSYSTÉMY SCHOVANÉ PŘED SLUNCEM.....	10
2.1.1. PROBLEMATIKA PRAMENNÝCH EKOSYSTÉMŮ.....	11
2.2. CHEMOLITOTROFOVÉ ZÁVISLÍ NA FOTOSYNTÉZE	12
2.3. METABOLISMUS A DRUH VERSUS PŮVOD SUBSTRÁTŮ	12
2.4. GEOLOGICKÝ ZDROJ ELEKTRONŮ	13
2.5. ZDROJ OXIDANTŮ PRO SLIME	14
2.5.1. TEKTONICKÉ PROCESY	14
2.5.2. ROZPAD PŘIROZENÝCH RADIOGENNÍCH IZOTOPŮ	15
3. HETEROTROFIE NA POČÁTKU ŽIVOTA.....	15
4. ŽIVOT NA JINÝCH PLANETÁCH	15
5. GEOLOGICKÉ PROCESY UMOŽŇUJÍCÍ EXISTENCI SLIME NA ZEMI.....	16
5.1. RADIOLÝZA VODY	16
5.1.1. PROSTŘEDÍ S RADIOAKTIVNÍM ZÁŘENÍM.....	16
5.1.2. MIKROBIÁLNÍ VYUŽITÍ RADIOLYTICKÝCH PRODUKTŮ	17
5.1.3. PRINCIP RADIOLÝZY VODY.....	19
5.1.3.1. IZOTOPY V PROSTŘEDÍ.....	19
5.1.3.2. PRODUKTY, ŘETĚZOVÁ REAKCE.....	19
5.1.3.3. RADIOLYTICKÁ OXIDACE PYRITU.....	20
5.1.4. OXIDANTY PRO RESPIRACI	20
5.1.5. VODÍK JAKO ZDROJ ENERGIE.....	20
5.1.6. SLIME POHÁNĚNÉ RADIOLÝZOU VODY	21
5.1.6.1. PÁNEV WITWATERSRAND – OXIDACE VODÍKU, REDUKCE SULFÁTU.....	21
5.1.6.2. OXIDACE VODÍKU, REDUKCE ŽELEZA.....	22
5.1.6.3. RADIOLÝZA V OCEÁNSKÝCH SEDIMENTECH	22
5.2. SERPENTINIZACE	24
5.2.1. PROCES.....	24
5.2.2. PROSTŘEDÍ	25
5.2.2.1. OCEÁNSKÁ KŮRA	25
5.2.2.2. OFIOLITY	26
5.2.3. PRIMÁRNÍ PRODUKCE V SERPENTINIZAČNÍCH PROSTŘEDÍCH	26
5.2.3.1. FERMENTACE JAKO PRIMÁRNÍ PRODUKCE	27
5.2.3.2. METANOGENEZE JAKO PRIMÁRNÍ PRODUKCE	27
5.2.3.3. OXIDACE VODÍKU ŽELEZEM JAKO PRIMÁRNÍ PRODUKCE	28
5.2.4. VRTY DO MAGMATITŮ OCEÁNSKÉHO DNA	29
5.2.5. RŮZNORODOST HYDROTHERMÁLNÍHO SYSTÉMU – VÍCE TYPŮ EKOSYSTÉMŮ.....	30
ZÁVĚR	32
LITERATURA.....	34

ÚVOD

Chemolitotrofní mikroorganismy jsou vedle fotoautotrofních běžnými primárními producenty v současné biosféře. Je ovšem zajímavé, zamyslet se nad tím, v jakém vztahu k sobě stojí tyto dva metabolismy zastupující biologickou primární produkci organických látek na Zemi. Chemolitotrofie ve většině povrchových ekosystémů vzkvétá především díky dostupnosti kyslíku nebo jím zoxidovaných produktů (SO_4^{2-} , NO_3^- , Fe^{3+} , Mn^{4+}). Kyslík je v dnešní vysoké atmosférické koncentraci produktem oxygenní fotosyntézy. Je tedy zřejmé, že chemolitotrofní společenstva jsou hojná právě díky tomuto procesu závislém na světle. Před tím, než se objevila oxygenní fotosyntéza (cca 2,4 mld let), musela být chemolitotrofní respirace značně limitována právě finálními akceptory elektronů. Vznik látek s oxidačními schopnostmi byl tehdy omezen na fotooxidativní procesy, které mohly probíhat vzhledem k absenci ozonové vrstvy, nebo na určité geologické procesy, které jsou schopny produkovat oxidanty bez přispění světla.

Pro dnešní chemolitotrofní společenstva nemá abiotická fotooxidace látek žádný význam. Tak jednoznačně to už nemůžeme tvrdit o některých geologických dějích, které probíhají na naší planetě dodnes. Většinou jsou tyto geologické děje popisovány jako důležité zdroje energie (myšleno zdroje elektronů) pro mikrobiální chemolitotrofní svět. To je zcela jistě pravdivé tvrzení, ale představíme-li si, jak by vypadal svět bez fotosyntézy, bude více logické snažit se popsat zdroj oxidantů pro dýchací řetězce. Oxidované látky by byly za takových podmínek i v některých povrchových oblastech kriticky nedostupné a byly by proto spíše hlavním předmětem mikrobiální soutěže. Je důležité si uvědomit, že opravdovým zdrojem energie ve skutečnosti není ani redukováná látka, ani oxidant, ale přítomnost obou dvou těchto složek na jednom místě ve stejném čase. Teprve oxidoredukční reakce uvolňuje energii, kterou je schopen biologický respirační řetězec velmi výhodně využít pro potřeby organismu.

Ve své práci se z toho důvodu pokusím popsat současné geologické procesy, které jsou schopny kromě zdrojů elektronů poskytovat také oxidanty. Pokud by takové prostředí neobsahovalo produkty oxidativní fotosyntézy a rostly by v něm chemolitotrofní mikroorganismy využívající pouze geologické substráty, mohli bychom tvrdit, že tyto ekosystémy nijak nezávisí na oxygenně fototrofním metabolismu. Vzhledem k tomu, že fotosyntetické produkty prostupují bez výjimky povrch naší planety, je nutné hledat zejména v hlubších partiích litosféry, kde vliv oxidativní fotosyntézy, avšak i početnost mikroorganismů slábne. Hluboké podpovrchové habitaty jsou totiž podobně jako původní zemská atmosféra redukční. Hon za oxidanty ze strany mikroorganismů je v těchto místech

podobně aktuální jako na zemském povrchu před nástupem oxygenní fotosyntézy. Popis takových ekosystémů by alespoň částečně umožnil představit si charakter „předfotosyntetických“ chemolitorofních společenstev. Pro fotosynteticky nezávislé mikrobiální ekosystémy bude dále v textu využívána zkratka SLiME (Subsurface lithoautotrophic microbial ecosystems).

1. ROZSAH PODPOVRCHOVÉ BIOSFÉRY

Pokud na Zemi existují mikrobiální společenstva, která jsou schopna čerpat energii z geologických procesů nezávisle na fotosyntetické primární produkci, lze očekávat, že právě tyto mikroorganismy budou rozšiřovat potenciální habitáty pod zemským povrchem. Otázkou ještě dnes zůstává, kolik živé biomasy se nachází v litosféře. O to složitější je odhadnout, jaké procento z této biomasy spadá pod ekosystémy nezávislé na oxygenní fotosyntéze.

Odhady podpovrchové biomasy z devadesátých let jsou značně optimistické. Whitman et al. (1998) odhaduje, že 91-94% všech prokaryotních buněk má svůj domov v horninách, které se nacházejí v rozmezí 10cm - 4km pod zemským povrchem. Zbytek připadá vodním ekosystémům a půdám. Takový odhad nelze brát příliš vážně, neboť je založen na výpočtech z úzkého okruhu dat, který byl v té době k dispozici a opomíjí geologickou variabilitu různých prostředí. Prozkoumanost kontinentálního i oceánského hlubokozemského prostředí z hlediska mikrobiologického byla na ještě nižší úrovni než dnes. Heterogenita, kterou skrývá podpovrchové prostředí, nesouvisí pouze s porozitou (závislou na tlaku), a teplotou (rostoucí s hloubkou), které byly ve studii uvažovány. V zemské kůře bychom našli i řadu horizontálních závislostí. Například vzdálenost od kontinentu řídí obsah biomasy v mořských sedimentech (D'Hondt et al. 2009). Tektonicky aktivní oblasti, které vytvářejí na Zemi tisíce km dlouhé pásy (Středoatlantský rift), poskytují řadu atraktivních zdrojů energie jak pro litoautotrofní tak pro heterotrofní mikroorganismy (Schrenk et al. 2013).

1.1. VRTNÉ PROGRAMY A PROZKOUMANOST LITOSFÉRY

V současné době je patrné, že biomasa podpovrchové biosféry nebude tak vysoká, jak sdělovaly první studie. Její rozsah není nicméně ani dnešním mikrobiologům jasný (Colwell a D'Hondt 2013). Patřičné usměrnění v odhadech přišlo s nástupem mikrobiologicky zaměřených vrtných oceánských programů, které byly součástí IODP (Integrated Ocean Drilling Program). Tento přístup rozšířil oblast mikrobiologického bádání i do jinak nepřístupných mořských sedimentů a bazaltů.

Vrtný program existoval už v šedesátých letech, tehdy byl ovšem přednostně zaměřen na průzkum geologických vlastností oceánské kůry a míra kontaminace vzorků neumožňovala mikrobiologům studovat materiál z vrtných jader (<http://www.iodp.org/>). Mikrobiologicky zaměřené výpravy se mohly konat až poté, co byl vyvinut vhodný způsob, jak omezit kontaminaci mořskou vodou z prostoru mimo vrtné jádro (Smith et al. 2000). Díky IODP jsou v současné době k dispozici přímé informace nejen o kontinentální kůře, ale i o té oceánské. Kontinentální prostředí je prozkoumáno zejména v místech, kde se nacházejí vstupy do hlubších částí zemské kůry z důvodu těžby nerostných surovin nebo kvůli antropogenním kontaminacím (Colwell a D'Hondt 2013).

1.2. FYZIKÁLNÍ PARAMETRY ŽIVOTA A DOSTUPNOST VOLNÉ ENERGIE

Tam, kde je vhodná teplota v kombinaci s tlakem (horní hranice $\approx 122\text{ }^{\circ}\text{C}$ - Takai et al. 2008), dostatečný prostor pro prokaryotní buňku (porozita $>0,2\mu\text{m}$ - Frederickson 1997) a voda v kapalném skupenství, můžeme hledat aktivní život. Pokud není některý z těchto faktorů splněn, můžeme si být jisti, že metabolicky aktivní mikroorganismy (v té podobě, v jaké je doposud známe) nenajdeme. Naopak toto tvrzení ovšem neplatí. Ve výčtu chybí totiž jedno zcela zásadní kritérium, tj. přítomnost využitelné volné energie. Jako zdroje energie označujeme látky, které při oxidoredukční reakci poskytují elektrony (mají nižší redoxní potenciál). Samotný zdroj energie (elektronů) není ale mikrobiální respirací využitelný. Této skutečnosti vděčí lidstvo za zachování fosilních paliv a paleontologové za své povolání. Pro to, aby se energie z látek uvolnila, musí být elektrony přeneseny na látku s vyšším redoxním potenciálem. Přítomnost oxidantů a zdrojů elektronů je tedy spolu s dostupností živin a stopových prvků příčinou nerovnoměrného výskytu prokaryotních společenstev ve svrchních partiích litosféry tam, kde to dovolí fyzikální podmínky (Hoehler et al. 2007).

1.2.1. TEPLOTA JAKO HLAVNÍ OMEZUJÍCÍ FAKTOR ŽIVOTA NA ZEMI

V souvislostmi s omezením živých organismů teplotou je vhodné zmínit odlišné vlastnosti kontinentální a oceanické kůry. Pokud mluvíme o hlubokozemských mikrobiálních společenstvech, je potřeba mít na paměti, že jejich rozsah směrem k zemskému plášti je omezen stoupající teplotou tímto směrem. Čím je kůra tenčí, tím blíže je hranice diskontinuity (MOHO) a roste tepelný tok v dané oblasti. V oceánské kůře s průměrnou tloušťkou 5-7km je v důsledku mělké MOHO geotermický gradient vyšší - průměrně $35^{\circ}\text{C}/\text{km}$ (výpočet Jones a Lineweaver 2010 podle dat Clauser a Huenges 1995), nežli na 35km tlusté kontinentální kůře, kde činí pouhých $25^{\circ}\text{C}/\text{km}$. Na kontinentu existuje velká variabilita v mocnosti litosféry (až

80km), kontinentální kůra má pestřejší horninové složení a navíc zde v produkci tepla hrají větší roli i radioaktivní procesy nežli je tomu v oceánské kůře (Smith 1973 v Jones a Lineweaver 2010). Proto je nutné brát v potaz značně kolísající hloubku teplotního limitu pro život zejména na kontinentech. Když použijeme průměrné hodnoty geotermických gradientů, můžeme jen orientačně stanovit průměrný hloubkový limit pro život - na kontinentu 5 km, v oceánské kůře 3,5 km pod zemským povrchem.

Společenstva nezávislá na fotosyntéze by bylo ideální hledat co nejhluběji v zemské kůře. Jak vyplývá z vlastností zemské kůry, není možné ale překročit jistou limitní hloubku, která je poměrně mělká. Tato společenstva se tedy mohou vyskytovat pouze v úzkém rozmezí litosféry, přičemž největší prostor z tohoto hlediska mají v mocné kontinentální kůře. Teploty, jak ty vysoké, tak ty nízké jsou hlavní příčinou toho, proč pouze ve 12% objemu Země, ve kterém existuje kapalná voda, nacházíme život (Jones a Lineweaver 2010).

2. CO JE SLiME?

Chemolitotrofní organismy je možné z ekologického hlediska rozdělit na dvě skupiny podle toho, zda využívají produkty vzniklé během fotosyntézy a jejich deriváty jako oxidanty či ne.

2.1. SLiME – EKOSYSTÉMY SCHOVANÉ PŘED SLUNCEM

Definujme SLiME jako ekosystémy, ve kterých mají roli primárních producentů chemolitotrofní nebo fermentující mikroorganismy, jež využívají pouze takové zdroje energie, jejichž vznik není a nebyl spojen s metabolismem oxygeně fototrofních mikroorganismů. Primární producenti takových ekosystémů musí být tudíž chemolitotrofové nezávislí na kyslíku jako finálním akceptoru elektronů.

Existují studie (Stevens and McKinley 1995, Chapelle et al. 2002, Takai et al. 2004), které popisují určitá prostředí jako SLiME, navzdory tomu, že se jim nepodařilo zcela vyloučit přítomnost jakýchkoli látek vzniklých oxygení fotosyntézou na dotyčných místech. Definici podmínek, které musí prostředí splňovat, aby mohlo hostit takovéto mikrobiální společenstvo předkládá Nealson et al. (2005), a jsou rozebrány na příkladu společenstev založených na radiolýze vody (viz kap. 5.1.2.)

Pokud budeme chtít objevit ekosystémy, jejichž primární producenti nejsou závislí na kyslíku, a budeme hledat na povrchu naší planety, pravděpodobně neuspějeme. Při výběru kandidátů SLiME musíme taková místa vyloučit a zaměřit se na hlubší části zemské kůry, kde najdeme výhradně prokaryotní společenstva, pro která je typický nízký podíl biomasy a zpravidla nízká

druhová diverzita (Colwell a DHondt 2013). To je první a zcela zásadní zúžení okruhu míst, kde lze pátrat po SLiME. Hlubokozemské prořídle ekosystémy se vymykají ekologickým pravidlům, která platí na povrchu. Konzumenti zde mají minimální význam, proto má smysl zaměřovat se více na primární producenty. Extrémním případem je hluboký kontinentální ekosystém v pánvi Witwatersrand, který je tvořen jedním bakteriálním druhem. Tento druh plní funkci primárního producenta a zároveň má možnost recyklovat vyprodukovanou biomasu (Chivian et al. 2008).

2.1.1. PROBLEMATIKA PRAMENNÝCH EKOSYSTÉMŮ

Existuje ještě jeden typ prostředí, kde lze uvažovat o přítomnosti SLiME, a to výstupy podzemních vod, v nichž existuje prostředí lokálně ovlivněné transportem látek a energie z velkých hloubek. Díky své dostupnosti jsou vývěry typickým předmětem studia mikrobiálních ekologů při hledání SLiME. Zároveň také představují dobrý model, na němž lze studovat prostorovou provázanost ekosystémů typu SLiME a ostatních. Hydrotermální vývěry spojené s tektonikou nebo i klasické kontinentální prameny vynášejí na povrch redukované látky z podpovrchových prostor a hostí různorodé společenstvo mikrobů, které roste v okolí vývěru. Mikrobiální život zde vzkvétá především díky dynamice prostředí, která umožní mísení redukovaných fluid s oxidanty. Vytváří se velký oxidoredukční gradient, ze kterého mikroorganismy získávají energii. Voda z vývěru nese možná vyplaveniny skutečného SLiME, který bude podstatně méně pestrý oproti metabolické explozi, kterou vidíme (někdy doslova) při vstupu vývěru do aerobního prostředí a v případě mořských vývěrů i v okolní vodě a sedimentu (Roussel et al. 2011). Při hledání SLiME v pramenných systémech je tudíž rovněž velice důležité zaměřit se na hlubokozemská prostředí, kde tento energetický „luxus“ chybí.

Prostorové vymezení ekosystému vývěrových vod není ale jednoduché. S trochou zjednodušení lze tvrdit, že v podpovrchové části existuje základní společenstvo (v některých případech možná SLiME), jehož část je vynášena na povrch. Se změnou oxidačního režimu ve vertikálním směru dochází ke změnám ve složení tohoto mikrobiálního společenstva. Podobným způsobem jako se mění společenstvo vývěru směrem vzhůru k povrchu, mění se například i metabolismus společenstva u stárnoucích vývěrů, jejichž hydrotermální aktivita je již velmi slabá. Zde se totiž také mění oxidační režim ve prospěch toho oxického. Podíl metanogenních archeí, typických mikroorganismů využívajících nefotosyntetické substráty (CO_2 , H_2), ve starších vývěrech klesá a objevují se hojně například ANME (metanotrofní archea oxidující methan syntrofií se síran redukujícími bakteriemi) (Brazelton et al. 2006).

Zároveň je třeba akceptovat heterogenitu systému, protože na stěnách vývěru, nebo na povrchu zrn horniny rostou zcela jiné mikrobiální druhy nežli v proudící vodě (Brazelton et al. 2006). Mikrobiální nárůsty v pórech horniny ve větších hloubkách tedy zůstanou mikrobiologům skryty, pokud nebude odebrán vzorek přímo na místě pod povrchem.

2.2. CHEMOLITOTROFOVÉ ZÁVISLÍ NA FOTOSYNTÉZE

Oproti SLiME je třeba zmínit skupinu, kterou tvoří mikroorganismy, jež využívají kyslík nebo oxidy prvků vzniklé jeho působením jako finální akceptory elektronů při oxidaci anorganických redukovaných sloučenin. Bez fotosyntézy, avšak pomocí světla (UV vlnových délek) dochází k disociaci vodních par za vzniku kyslíku (ozónu) a vodíku. Tento proces je nicméně brzděn zpětnou vazbou, protože kyslík brání pronikání dalšího UV záření. Hladina kyslíku v atmosféře, která efektivně zabraňuje další fotodisociaci vody, se pohybuje mezi 10^{-3} – 10^{-4} dnešní atmosférické koncentrace O_2 (Berkner a Marshall 1964). Z toho důvodu se předpokládá, že původ dnešního vysokého obsahu kyslíku v atmosféře je třeba hledat v metabolismu organismů a nikoli v abiotických procesech. Přítomností tohoto plynu je ovlivněna naprostá většina dnešních povrchových i podzemních chemolitotrofních společenstev a proto je můžeme z pátrání po SLiME vyloučit. Je zřejmé, že před nástupem oxygenní fotosyntézy tomu tak být nemohlo a že chemolitotrofní společenstva na povrchu Země musela být založena na jiných metabolických principech. Před nástupem oxygenní fotosyntézy mohla mít částečný vliv ta anoxygenní - produkující elementární síru. Její geochemické dopady však nemohly mít takový rozsah jako v případě produkce rychleji se šířícího plynného kyslíku a lepší dostupnosti jeho zdroje - vody.

2.3. METABOLISMUS A DRUH VERSUS PŮVOD SUBSTRÁTŮ

Ve středu pozornosti při definování SLiME stojí mikrobiální metabolismus. Je nezbytné správně hodnotit vztah metabolismu a druhu u prokaryot. U bakterií či archeí nelze spoléhat na závislost fylogeneze a metabolismu. Každý metabolismus je rozšířen mezi velkým počtem druhů i vzájemně si nepříbuzných jak díky evolučnímu stáří mnoha metabolismů, tak kvůli horizontálnímu přenosu genetické informace. V mikrobiologii se často používá 16S rRNA pro fylogenetické zařazení druhu. Tato sekvence ovšem neposkytne přímou informaci o metabolických schopnostech mikroorganismu. Pouze pokud je blízce příbuzná té, jejíž druh je úspěšně kultivován, můžeme předpokládat využívání podobného repertoáru energetických metabolismů (Nercessian et al. 2005). Různé izoláty jednoho druhu mohou mít navíc odlišné metabolické schopnosti. Rovněž není výjimkou, že jedna kultura je schopna měnit

metabolismus se změnami v dostupnosti využívaných substrátů. Přednostně je použita ta oxidoredukční reakce, která poskytne největší množství energie.

Je důležité, že podstata mikrobiálního společenstva SLiME netkví ve speciálních druzích mikroorganismů, které se vyskytují výlučně v rámci tohoto ekosystému a nikde jinde. Zrovna tak to neznamena, že metabolismus společenstva SLiME nenajdeme u mikrobů v běžných, fotosyntézou podporovaných prostředích. Metanogeneze je běžná v rybníčním dně nebo ve střevech makroorganismů stejně jako v ekosystémech SLiME. Definice SLiME je založena na původu využívaných substrátů místním společenstvem, pro potvrzení existence SLiME v určitém prostředí je tedy nejdůležitější dokázat jejich geologický původ (Nealson et al. 2005). Důležitým nástrojem výzkumu potenciálních společenstev typu SLiME je však rozhodně také metagenomická analýza, která umožní zjistit celkový repertoár metabolických schopností společenstva.

2.4. GEOLOGICKÝ ZDROJ ELEKTRONŮ

Zdroj energie (zdroj elektronů), který společenstvo SLiME využívá, musí být produkován geologickými procesy a v prostředí se nesmí nacházet žádné zdroje vzniklé fotosyntézou (Nealson et al. 2005). Jsou známy čistě geologické procesy, které produkují velké množství redukovaných látek, ze kterých je možno čerpat energii (Ivanov a Karavaiko 2004). Zdroj elektronů tím pádem není hlavním limitujícím faktorem SLiME.

Za hlavní redukované komponenty využitelné metabolismem, které produkuje geologické prostředí, je možno označit následující prvky: Fe^{2+} , Mn^{2+} , S^{2-} , H_2 (Dong 2010) a jednoduché organické sloučeniny (Proskurowski et al. 2008). Všechny tyto látky jsou hojně využívány jako zdroje elektronů pro respirační řetězce například v rámci oceánského dna a jsou zde oxidovány díky přítomnosti oxidantů z mořské vody. Oxidace Fe^{+II} pocházejícího z pyritu je typická pro acidofilní litotrofní mikroby v kyselých důlních vodách na kontinentu (Baker a Banfield 2003), které ho oxidují aerobně. Vodík, metan či krátké uholovdíkované řetězce představují hlavní zdroje energie ve vývěrových vodách serpentinizačních hydrotermálních systémů (podmořských bílých kuřáků) (Schrenk et al. 2013) a S^{2-} je hlavním zdrojem elektronů v hydrotermálních vývěrech černých kuřáků. V hlubokých kontinentálních i oceánických prostředích se místy vyskytují vysoké koncentrace vodíku, jehož vznik je přičítán radiolytickému rozkladu vody (Lin et al. 2006, D'Hondt et al. 2009). V oblastech jako jsou bažiny a vlhké půdy je rovněž důležitý vodík pro metanogenezi (Ivanov a Karavaiko 2004). Příčinou jeho vzniku je ale fermentace organických látek a nikoli geologické děje.

2.5. ZDROJ OXIDANTŮ PRO SLiME

Přísun oxidovaných látek vzniklých geologickou cestou bez působení kyslíku je stejně nezbytnou podmínkou jako produkce zdrojů elektronů (Nealson et al. 2005). Výčet prostředí se tudíž podstatně zúží, pokud se zaměříme pouze na ty geologické procesy, které produkuje kromě zdroje elektronů zároveň také dostatek oxidantů, jež jsou nezbytné pro respirační řetězce mikroorganismů SLiME.

2.5.1. TEKTONICKÉ PROCESY

Mezi nejvýznamnější geologické producenty oxidantů patří děje, které probíhají v souvislosti s deskovou tektonikou. Jedná se o sopečnou činnost a s ní spojené hydrotermální procesy vyskytující se na aktivních rozhraních litosférických desek. CO_2 unikající z magmatu je pro SLiME ideálním oxidantem. Jeho zdrojem navíc nemůže být fotosyntéza neboť ho sama využívá jako zdroj energie i uhlíku. Prostředí, kde se vyskytují současně i redukované látky geologického původu, je, jak vyplývá z předchozí kapitoly, systém hydrotermálních vývěrů divergentních rozhraní (Humphris et al. 1995). Metanogeneze je jediným metabolismem, který využívá CO_2 jako oxidant. Z toho důvodu bude věnována pozornost pouze serpentizačním vývěrům, protože právě ty obsahují vodík potřebný pro metanogenní společenstva. Kvůli bazické povaze serpentizačních fluid je nezbytné věnovat pozornost chování CO_2 v různém pH. Serpentinizace (alterace ultrabazických hornin) vytváří ve svém okolí velice vysoké pH ($\text{pH}=11-12$), při kterém se vysráží všechny karbonáty ve formě CaCO_3 pokud je v roztoku k dispozici Ca^{+II} (Barnes et al. 1978). Obsah CO_2 respektive HCO_3^- ve fluidu se pak rovná 0, nebo je pod úrovní detekce (Schrenk et al. 2013) a stává se tak nedostupným pro metanogenní archea. Vysoké pH bílých kuřáků může tedy představovat jistá omezení v asimilaci CO_2 . Alkalické prostředí také způsobuje nízký protonový gradient na membráně, který ale lze obejít tvorbou ATP pomocí gradientu Na^+ (Skulachev 1989), nebo substrátovou fosforylací u fermentujících mikroorganismů.

Serpentinizace samotná je ovšem schopna produkovat také oxidované formy železa (Oze a Sharma 2005), které též může sloužit jako akceptor elektronů při anaerobní oxidaci vodíku (viz kap. 5.2.)

2.5.2. ROZPAD PŘIROZENÝCH RADIOGENNÍCH IZOTOPŮ

Druhým geologickým procesem, při kterém vznikají oxidanty využitelné mikrobiálním metabolismem, je radioaktivní záření. Pokud je v prostředí přítomen pyrit (FeS_2), způsobuje

záření vzniklé rozpadem přirozených radioizotopů ve vodních anoxických podmínkách jeho oxidaci. Produktem této oxidace jsou sírany, případně i železité ionty. Pro oba dva tyto oxidanty existuje metabolismus, který je schopen je využít při oxidaci vodíku. (viz kap. 5.1.)

3. HETEROTROFIE NA POČÁTKU ŽIVOTA

Jak bylo řečeno v úvodu, chemolitotrofové jsou běžnými primárními producenty v současné biosféře, ale jejich společenstva nemusela být těmi prvními na Zemi. Není opodstatněné domnívat se, že autotrofie byla první ekologickou rolí mikroorganismů v historii naší planety kvůli tomu, že stojí na začátku potravního řetězce na úrovni makroorganismů. Je možné, že první mikroorganismy byly spíše heterotrofní. Biologická primární produkce zcela bezpochyby umožnila obrovský rozvoj života, v jaké formě ho vidáme dnes, nicméně abiotický vznik organických látek je staršího data. Existují dva doposud známé mechanismy jejich vzniku (Mulkey et al. 2012). Jedním je abiotická fotosyntéza organických látek na povrchu sfaleritu (Zhang et al. 2007), která byla reálně možná zejména v redukční atmosféře, kde mohly být sulfidy vystavené světlu, aniž by je oxidoval kyslík. V současnosti jsou fotické oblasti spojeny s přítomností kyslíku, takže tento zdroj organických látek již nebude významný. Druhým mechanismem je alterace ultramafických hornin - dodnes běžný jev především na aktivních rozhraních litosférických desek v místech, kde panují redukční podmínky a teploty okolo 300 °C (Sleep et al. 2004). Obdobně musíme do výčtu potenciálních SLiME započítat i společenstva žijící v podstatě heterotrofně z látek vznikajících abioticky v současných serepentinizačních vývěrech. (viz kap. 5.2.3.1.)

4. ŽIVOT NA JINÝCH PLANETÁCH

Vyřešení otázky nezávislosti života na fotosyntetických produktech by mělo zásadní dopad na hledání extraterestrického života. Vneslo by nové světlo do problematiky obyvatelnosti prostředí živými organismy. Toto vymezení vhodného prostředí pro živé bytosti je poněkud kontroverzní, protože závisí na definici života, která není jednoznačná (Baross et al. 2007). Nicméně alespoň při pátrání po mikrobiálním životě založeném na podobných principech jako na Zemi bychom výrazně rozšířili potenciální niky na kosmických tělesech. Jednak by nabylo smyslu pátrat na planetách, které rotují pomalu, a v důsledku toho je vždy jejich část na dlouhé období v temnotě – ve Sluneční soustavě například Venuše s periodou rotace okolo vlastní osy 224.695 pozemských dní (Ahrens 1995 v Karatekin et al. 2010), nebo na tělesech, která jsou permanentně ve tmě. Za druhé by se výzkumy při odebírání vzorků mohly více

zaměřovat i na podpovrchová prostředí kosmických těles a ne pouze na jejich povrch (Edwards et al. 2012). To by mělo význam především na chladných planetách či přirozených družicích, na jejichž povrchu je led a kapalná voda se nachází jenom ve větších hloubkách, kde chybí fotosynteticky aktivní záření.

5. GEOLOGICKÉ PROCESY UMOŽŇUJÍCÍ EXISTENCI SLIME NA ZEMI

Na Zemi existují v zásadě dva geologické procesy, které produkují jak vhodné zdroje energie, tak finální akceptory elektronů pro mikrobiální respiraci. První z nich je rozklad vody pomocí radioaktivního záření z rozpadu přirozených radiogenních izotopů. Druhým je alterace ultramafických hornin obsahujících železo (serpentinizace), která probíhá ve vodním prostředí za vyšších teplot.

5.1. RADIOLÝZA VODY

5.1.1. PROSTŘEDÍ S RADIOAKTIVNÍM ZÁŘENÍM

Radiogenní izotopy, jež jsou příčinou rozpadu molekul vody, jsou obsaženy v různých typech hornin. Radioaktivní rozpad může probíhat v sedimentárních útvarech na povrchu mořského dna (Blair et al. 2007), v metamorfovaných horninách nebo v hlubokozemských tělesech vyvřelých hornin (Lin et al. 2005b). Prostředí, kde tento nukleární rozpad může fungovat, není omezeno konkrétním typem horniny na rozdíl od serpentinizace. Radioaktivní rozpad probíhá všude tam, kde se vyskytují radiogenní izotopy. V některých horninách je ovšem koncentrace radiogenních izotopů vyšší. Co se týče sedimentů, obecně platí, že množství radiogenních izotopů pozitivně koreluje s obsahem jílových minerálů. (Taylor and McLennan 1985 v Blair et al. 2007) Přirozená radioaktivita těchto sedimentů se pak může vyrovnat té v plutonických horninách. Různé prvky (respektive izotopy) se totiž vyskytují v různých minerálech v závislosti na svých chemicko-fyzikálních vlastnostech. Jisté závislosti zde tedy existují, ale v zásadě se jedná o děj typický pro všechna horninová prostředí na Zemi. Radioaktivní rozpad tudíž není typický pouze pro kontinentální nebo oceanickou kůru a prostor v rámci zemské kůry, kde může probíhat není omezen hloubkou. Takový zdroj energie má velký prostorový potenciál a společenstvům SLIME umožňuje dostatečně se distancovat od zemského povrchu, na němž panují vysoké koncentrace fotosynteticky vzniklého kyslíku a organických látek.

Rozklad vody pomocí radioaktivního záření vyžaduje nicméně konkrétnější podmínky. Kromě radiogenního izotopu musí být na místě přítomna i voda a pyrit (viz níže). Ideálním

prostředím, kde pyrit neoxiduje vlivem kyslíku, jsou vlhká anoxická hlubokozemská prostředí, kde ve zvětrávání tohoto minerálu hraje roli pouze radioaktivní záření (Lefticariu et al. 2010).

5.1.2. MIKROBIÁLNÍ VYUŽITÍ RADIOLYTICKÝCH PRODUKTŮ

Radiolýza vody produkuje vhodné zdroje energie a oxidanty pro mikrobiální metabolismus (Lin et al. 2006, Chivian et al. 2008). Hluboký kontinentální ekosystém, jaký popsal Chivian et al. (2008) opravdu odpovídá po všech stránkách na fotosyntéze nezávislému SLiME. Z jedné studie však nelze posoudit, jaký je celkový rozsah takových společenstev na Zemi. Není možné si udělat představu o tom, zda se jedná o obecný jev, nebo zda byl odhalen endemický ekosystém. Proto je nutné zopakovat podobný multidisciplinární přístup na jiných lokalitách.

Zcela zásadním požadavkem je stanovení si jednotlivých kroků, které musí být ve studii zkoumající potenciální SLiME ověřeny: Poté, co bude geochemickými metodami dostatečně prokázán původ zdroje energie pro mikrobiální společenstvo v dané lokalitě, musí být následně na tom samém místě nalezen metabolismus, který tyto zdroje skutečně využívá. S aplikací takového postupu se setkáváme velmi zřídka. Některé starší studie (Pedersen 1997) pouze předpokládají existenci na fotosyntéze nezávislých podzemních společenstev, ale nijak ji nedokazují. Jejich předpoklady jsou založené na faktech jako je nízký podíl organického uhlíku, vysoký počet metanogenních mikroorganismů (60-80%) ve společenstvu či značná vzdálenost od zemského povrchu. Všechny tyto okolnosti hypotézu nezávislosti na fotosyntéze podporují, ale dostatečně ji nedokazují.

Je nutné splnit dva základní okruhy požadavků: První se týká vzniku substrátů, druhý přítomnosti mikroorganismů v aktivním stavu s metabolickým potenciálem pro využívání těchto substrátů, sloužících pro jejich účely jako zdroj energie.

Původ a vznik zdrojů energie:

- (I) Ve zkoumaném prostředí pod zemským povrchem musí být přítomna voda jako předmět radiolýzy a horniny obsahující přirozené radiogenní izotopy.
- (II) Ve vzorcích podzemních fluid musí být naměřeny odpovídající koncentrace produktů radiolýzy (vodík atd.). Pomocí izotopových analýz je nutné ověřit původ substrátů pro mikroby – například u sulfátů je vhodné stanovit zdroj kyslíku, kterým musí být voda a nikoli atmosférický kyslík.
- (III) V případě, že bude v dané lokalitě jako proces, kterým buňka získává energii, stanovena respirace, je nutné najít v prostředí vhodné redukované minerály

(obvykle sulfidy), které mohou být produktem radiolýzy oxidovány a posloužit jako finální akceptory elektronů dýchacího řetězce.

- (IV) Substrátů, vyprodukovaných radiolýzou nebo následnými reakcemi jejich produktů, musí být dostatečné množství, aby umožnilo udržení aktivního metabolismu buňky.
- (V) Tento substrát musí být ve formě (nejlépe v roztoku) využitelné mikroorganismy.
- (VI) Substráty se musí vyskytovat v prostředí, kde jsou přijatelné fyzikální podmínky pro život (teplota, porozita hornin). Neznamená to ale nutně, že samotný proces radiolýzy musí probíhat na místě, kde organismy žijí, vzhledem k možné migraci fluid, zvláště těch teplých, směrem vzhůru.
- (VII) Musí být prokázána přítomnost mikroorganismů a jejich schopnost využívat produkty radiolýzy vody. Nejvýhodnější cestou jak toho docílit je zjištění genů pro proteiny zapojené do redoxních reakcí odpovídajících substrátů. Zcela jednoznačně by měly být osekvenovány všechny přítomné geny v prostředí (metagenomika). V případě, že nelze přechist celý genom organismu, je možné alespoň odhadnout, jaký metabolismus využívá známý mikrobiální druh, který je podle 16S rRNA neznámému mikroorganismu nejpodobnější.
- (VIII) Nezbytnou podmínkou je, aby byly mikroorganismy metabolicky činné a nesetrvávaly v energeticky chudém prostředí jako dormantní stádia, čekající na přísun energie, nebo aby se nejednalo pouze o zbytky DNA přítomné v prostředí. Z toho důvodu by bylo žádoucí prokázat aktivní metabolismus izotopově značenými substráty v mikrokosmových experimentech. Tento způsob je ovšem obtížně proveditelný, zvláště s mikroorganismy z tak krajních podmínek. Kultivace čistých kultur litotrofních mikroorganismů je v absolutní většině případů neúspěšná.

Splnění všech těchto podmínek je značně náročné. Prakticky jediné místo, které bylo po těchto stránkách detailněji prozkoumáno více autory (Robb and Meyer 1995, Lippman et al. 2003, Lin et al. 2005a, Lin et al. 2005b, Lin et al. 2006, Chivian et al. 2008, Lefticariu et al. 2010 a další) z pohledu geologického, geochemického i mikrobiologického je pánev Witwatersrand v jižní Africe, kde se těží zlato, diamanty, případně uhlí a jiné suroviny. To je pravděpodobně hlavním důvodem vysokého stupně probádanosti tamních geologických poměrů jako je stáří, původ a chemismus drenážních vod či morfologie a stratigrafie jednotlivých těles. Díky tomuto ekonomickému zájmu je možné se dostat i do velkých hloubek - přibližně až do 4000 m pod zemským povrchem. Málokterá hlubinná

kontinentální prostředí jsou dostupná jako pánev Witwatersrand a poskytují nám početné vstupy ve formě šachet jednotlivých dolů do různých míst v jedné, relativně malé oblasti (Ward et al. 2004).

5.1.3. PRINCIP RADIOLÝZY VODY

5.1.3.1. IZOTOPY V PROSTŘEDÍ

Rozklad molekuly vody vyžaduje značné množství energie, neboť vazba mezi atomy vodíku a kyslíku je silně polární (Garret et al. 2005). Pohonem pro tento děj v případě radioaktivního rozpadu jsou částice vyzařované radiogenními izotopy některých prvků jako uran (^{238}U), thorium (^{232}Th) a draslík (^{40}K). Uran (^{238}U) a thorium (^{232}Th) jsou zodpovědné za většinu záření v kontinentální kůře (Rudnick a Gao 2007) a hrají důležitější roli při radiolýze vody, než ostatní méně početné radiogenní izotopy.

Laboratorní experimenty, které počítají pouze s působením těchto dvou nejvýznamnějších izotopů, budou skutečnou míru radiolýzy v kontinentální kůře mírně podhodnocovat. Další a pravděpodobně velice významné podhodnocení skutečného stavu je způsobené používáním pouze jednoho typu záření (γ) při experimentech, ačkoli zbylé dva typy (α, β) představují významnější zdroj uvolněné nukleární energie (až 98%). Je potřeba mít na paměti, že intenzita skutečné radiolýzy v přirozeném prostředí se může od hodnot pozorovaných v laboratoři značně lišit. Jednoznačné ale je, že působením γ -záření vznikají z vody a pyritu produkty, které jsou využitelné mikrobiální respirací. (Lefticariu et al. 2010)

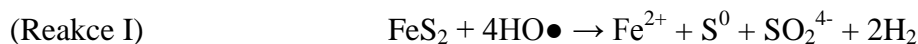
5.1.3.2. PRODUKTY, ŘETĚZOVÁ REAKCE

Mezi takzvané „primární produkty radiolýzy“ (Draganic a Draganic 1971 v Blair et al. 2007) patří protony (H^+), elektrony (e^-), hydroxylové radikály (OH) a vodíkové radikály (H). Radikály jakožto vysoce reaktivní formy napadají ve velmi krátkém čase buď další molekuly vody nebo reagují mezi sebou. Produktem následných reakcí mohou být jiné radikály, ale především také z hlediska mikrobiálních zdrojů energie důležité redukované sloučeniny (H_2) a silné oxidanty jako peroxid vodíku (H_2O_2) (Pastina a LaVerne 2001), které oxidují sulfidy na sírany sloužící jako finální akceptory elektronů respiračních řetězců.

5.1.3.3. RADIOLYTICKÁ OXIDACE PYRITU

Pokud se zaměříme na respirativní procesy, nabízí se děj poskytující dostatečné množství akceptorů i donorů elektronů pro respirativní metabolismus. Tímto dějem je radiolytická oxidace pyritu. Radioaktivní záření štěpí vodu na reaktivní radikály, ty spouští řetězové

reakce. Radikály, především ty hydroxylové, způsobují oxidaci a narušování povrchu pyritu (reakce I) (Lefticariu et al. 2010). Tento děj je důkazem toho, že pyrit může podléhat oxidaci a rozpouštět se i v anoxických podmínkách.



Přenosy elektronů se odehrávají v mikroprostředí okolo pyritu, na kterém se vytváří vrstvička elementární síry (Lefticariu et al. 2010). V bezprostředním okolí povrchových krystalů se tvoří strmé oxidoredukční gradienty, jež se nabízejí jako vhodné prostředí, na kterém se může udržet mikrobiální respirace. Množství produktů radiolýzy vody a míra oxidace pyritu závisí na velikosti povrchu minerálu přístupného pro vodu. Nepřekvapí tudíž, že porozita horniny a obsah vody jsou velmi důležitým faktorem ovlivňujícím početnost produktů.

5.1.4. OXIDANTY PRO RESPIRACI

Anoxickou oxidací pyritu tedy vznikají sulfáty, jež jsou využívány v mikrobiálních ekosystémech jako finální akceptory elektronů (Chivian et al. 2008), (Lin et al 2006) Je pravděpodobné, že radiolyticky vznikají i jiné oxidanty jako je $\text{Fe}^{+\text{III}}$ (Stuglik a Zagorski 1981), které by rovněž mohly hrát roli v metabolismu mikroorganismů v hlubokých prostředích zemské kůry.

5.1.5. VODÍK JAKO ZDROJ ENERGIE

Vodík patří mezi klíčové produkty radiolýzy, které umožňují existenci podpovrchových mikrobiálních společenstev (Lin et al. 2006). Stabilita produktů radiolýzy může být na rozdíl od samotného procesu emise radioaktivních částic do jisté míry ovlivněna podmínkami prostředí. Například v roztoku 3% NaCl je obsah vodíku o 20% vyšší než v čisté vodě (0,3% NaCl)(Lin et al. 2005a), protože přebytečné hydroxylové radikály reagují spíše s anionty solí, než aby zpětně rozbíjely vzniklý vodík (Spinks a Woods 1990 v Blair et al. 2007). V reálném hlubokozemském horninovém prostředí v pánvi Witwatersrand dosahují koncentrace vodíku vyprodukované radiolýzou vody na některých místech až mM koncentrací (Lin 2005b).

Pokud je systém, kde dochází k rozkladu vody uzavřený a je zabráněno úniku plynného vodíku, jsou jeho koncentrace udržovány na stálé úrovni (Pastina a LaVerne 2001). V přirozeném prostředí může vodík v plynné formě unikat směrem vzhůru, nebo být konzumován mikroorganismy. Oba dva vlivy se tímto způsobem podílejí na odstraňování produktu a podporují jeho další vznik.

5.1.6. SLiME POHÁNĚNÉ RADIOLÝZOU VODY

5.1.6.1. PÁNEV WITWATERSRAND – OXIDACE VODÍKU, REDUKCE SULFÁTU

Ve vodách vytékajících z čerstvě navrtaných míst zlatého dolu v pánvi Witwatersrand v hloubce cca 2,8 km byl pomocí environmentální genomiky odhalen mikrobiální ekosystém, jehož společenstvo je tvořeno prakticky jedním bakteriálním druhem. Tento nový druh nazvaný *Desulforudis audaxviator*, spadající podle fylogenetických analýz pod skupinu *Firmicutes*, tvoří 99,9% společenstva. Po osekvenování celého genomu byly zjištěny geny pro proteiny potřebné k provozování chemoautotrofního metabolismu. energii pro syntézu vlastních organických látek získává *D. audaxviator* redukcí síranového aniontu vodíkem, oba dva substráty na místě vznikají s nejvyšší pravděpodobností výše popsanou anoxickou radiolytickou oxidací pyritu (Lin et al. 2006, Lefticariu et al. 2010). Co se týče příjmu uhlíku, má bakterie *D. audaxviator* možnost asimilovat CO₂ pomocí Wood-Ljungdahlovy syntézy, jejímž produktem je acetyl-koenzym A, využitelný pro další anabolické pochody. *D. audaxviator* není ovšem odkázána pouze na autotrofní výživu, což dokládají geny pro transportéry cukrů a aminokyselin (Chivian et al. 2008).

V této studii se setkáváme se zajímavým úkazem, kdy je živá složka celého ekosystému řízená jediným genomem. Je pravděpodobné, že vždy určitá část bakterií v ekosystému využívá heterotrofní metabolismus a efektivně recykluje odumřelou biomasu svých druhů a nedovolí nahromadění organického uhlíku v prostředí. Pakliže by tomu tak nebylo, musely by se v místní podzemní vodě pomalu hromadit organické látky. To se ale neděje, podmínky zůstávají oligotrofní. Je jasné, že část bakterií, která se právě živí organickým materiálem bude představovat velmi malé procento z celkového počtu. Není vyloučeno, že jedna bakteriální buňka střídá oba typy metabolismů ve velmi krátkých časových intervalech. Už lehké navýšení organických látek v prostředí může vyvolat silnou odpověď v syntéze jejich transportérů a proteinů podílejících se na katabolických reakcích těchto organických látek. Oxidace vodíku sulfáty není energeticky příliš výnosná (Boettger 2013). A proto schopnost rychle zapojit systém zpracovávání organických látek (ať už jako zdroje uhlíku či energie) může být značnou selekční výhodou.

5.1.6.2. OXIDACE VODÍKU, REDUKCE ŽELEZA

Protože při anoxické oxidaci pyritu vzniká i oxidované železo (Fe^{+III}), jak bylo řečeno výše, má smysl hledat kandidáty na mikroorganismy SLiME i mezi těmi, kteří umí žít anaerobně z oxidace vodíku železitými ionty. Redukci železa vodíkem umí řada bakterií a archeí, jejichž kultury ovšem nerostou bez přísunu organických látek – například *Pseudomonas sp.* (Lovley

1991). Lepším kandidátem, u kterého si můžeme být jistí, že je opravdu schopen takového litotrofní výživy je *Acidithiobacillus ferrooxidans*. Bakterie *A. ferrooxidans* roste v umělých kulturách i v anaerobních podmínkách. Běžně umí oxidovat Fe^{+II} kyslíkem, ale pokud je vystavena anoxii a má v médiu k dispozici Fe^{+III} a vodík jako jediný zdroj elektronů, rostou některé její kmeny rovněž i v těchto podmínkách. V buňce začíná syntéza cytochromu c, který je posledním proteinem v respiračním řetězci a redukuje železitý iont. (Ohmura 2002)

Jako člena SLiME není nutné hledat přímo druh *A. ferrooxidans*. Zkušenost s jeho kultivací na vodíku a železu ukazuje, že v principu je podobný metabolismus možný. Pokud tedy by byly v kontinentální kůře ve větších hloubkách nalezeny metagenomickým přístupem sekvence genů pro respiraci vodíku železem (Fe^{+III}), bylo by žádoucí pustit se do dalších rozborů genomu mikroorganismů a geochemických (izotopových) analýz původu zdrojů energie s cílem posoudit nezávislost na produktech fototrofních metabolismů. Jak vodík, tak Fe^{+III} mohou vznikat působením radioaktivního záření (Lin et al. 2005a, Stuglik a Zagorski 1981).

Mnohé práce často končí ve fázi fylogenetického rozboru společenstva, stanovením příbuznosti mikroorganismů se známými druhy, na základě této příbuznosti je pak odhadnut převládající metabolismus, který musí odpovídat zdrojům detekovaným a dostupným v přirozeném prostředí. Pokud je ale cílem podobných studií stanovení nezávislosti zkoumaného ekosystému na fotosyntéze, nepostačuje podobný přístup k vyřešení otázky existence SLiME.

5.1.6.3. RADIOLÝZA V OCEÁNSKÝCH SEDIMENTECH

Potvrdit radiolýzu jako primární pohon mikrobiálních společenstev v podmínkách oceánských sedimentů není jednoduché. Oceánské sedimenty jsou rovněž bohaté na radiogenní izotopy, jak vyplývá z rozborů vrtných jader oceánského dna. (Blair et al. 2007) Tyto sedimenty ale také obsahují velké koncentrace oxidantů, které nevznikají působením radioaktivního záření. Jedná se o sírany, jejichž obsah v mořské vodě je úzce spjat s fotosyntézou.

Pokud se podíváme zpět do historie oxidoredukčních podmínek na naší planetě, nebyly sulfáty vždy dominantní složkou mořské vody. Usuzuje se tak podle absence barytových (BaSO_4) či sádrovcových (CaSO_4) evaporitů a přítomnosti uloženin železa, které bylo v obdobích oceánu chudého na kyslík rozpuštěno jako Fe(II) a při změně podmínek - teplota, oxidace – bylo místně vysráženo. Původ sulfátů v dobách starších než 2,4 miliardy let byl podle geochemických rozborů fotolytický a předpokládá se, že byl obsažen pouze ve svrchní vrstvě oceánu, zatímco spodní část tvořící většinu objemu oceánu vykazovala spíše redukční charakter s koncentrovaným H_2S , jako je tomu dnes v Černém moři (Ivanov a Karavaiko

2004). Od „okamžiku“, kdy se objevila oxygenní fotosyntéza začal obsah síranů stoupat (oxidací kyslíkem), zároveň byla fotolytická produkce zastavena obsahem kyslíku v atmosféře. Hlavním mechanismem pro vytvoření a udržení sulfátů v celém objemu světového oceánu se tak stala oxygenní fotosyntéza (Huston a Logan 2004).

Z toho důvodu je na místě považovat veškerý rozpuštěný sulfát v dnešním oceánu za vedlejší produkt oxygenně fototrofního metabolismu. Sedimenty pokrývající oceánskou kůru jsou prosyceny mořskou vodou a tudíž i síranovými anionty, které jsou zde hojně využívány anaerobními mikrobiálními společenstvy jako akceptory elektronů z dýchacích řetězců (DHondt 2004, Jorgensen et al. 2006) Pro SLiMEs není v oceánských sedimentech očividně mnoho prostoru, protože respirace je zde dotována jednak klesající organikou z fotické zóny (zdroje elektronů) a jednak zmiňovanými sírany, případně dusičnany (akceptory elektronů), jejichž vznik můžeme také připsat na vrub fotosyntéze.

To nemění nic natom, že oceánské sedimenty mohou mít dobrý potenciál pro vznik radiolytické zdroje energie (H₂), protože mají větší porozitu a jemnější zrnitost nežli vyvěrlá tělesa na kontinentu. D'Hondt et al. (2009) odhaduje na základě výpočtů z dat z vrtných jader IODP, že pro oligotrofní oblasti s malou primární produkcí ve vodním sloupci může představovat radiolytický vodík až 50% zdrojů elektronů využívaných mikrobiálním společenstvem při respiraci. V oblastech oceánských pouští mohou mít radiolytické zdroje energie větší význam než v upwellingových zónách. Ruku v ruce s tímto poznatkem jde ovšem i fakt, že takové oligotrofní vody jsou zároveň velmi dobře prokysličené. Kyslík dokonce může pronikat skrz sediment až k bazaltovému podkladu a bude zde tedy mikroby přednostně využíván pro oxidaci vodíku.

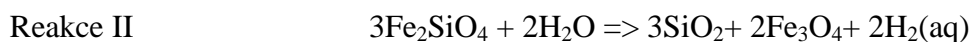
Sudie zaměřující se na využití radiolytického vodíku mikrobiálními společenstvy mořských sedimentů (Blair et al. 2007, DHondt 2009) se ani nesnaží zodpovědět otázku nezávislosti na fotosyntéze. V souvislosti s radiolýzou pouze zkoumají význam radiolytického vodíku pro mikrobiální společenstva. S mikrobiální redukcí kyslíku či síranů fotosyntetického původu autoři počítají.

5.2. SERPENTINIZACE

5.2.1. PROCES

Serpentinizace je proces anoxického zvětrávání ultramafických a ultrabazických hornin (peridotitů) ve vodním prostředí. Peridotity mají vysoký podíl železa a hořčíku, tyto prvky jsou součástí krystalů olivínu či pyroxenu (Schrenk et al. 2013). Při serpentinizaci se oxiduje železo a vznikají nové minerální fáze, jež ho obsahují (viz reakce II). Oxidačním činidlem je

voda, která se redukuje na vodík. Uvedená reakce představuje pouze jeden z mnoha alteračních dějů, které při serpentinizaci probíhají. Pro účely popisu vzniku vodíku jako nejdůležitějšího zdroje energie litotrofních na fotosyntéze nezávislých společenstev postačí následující zjednodušení.



Podle Oze a Sharma (2005). Z železnatého olivínu (fayalitu) vzniká působením vody křemen, případně amorfni sklo, magnetit a rozpuštěný vodík. Reakci možno napsat analogicky pro pyroxen.

Všimněme si, že se v zásadě jedná o podobný princip jako v předchozí kapitole u radiogenního zvětrávání sulfidů – vznikají oxidované i redukované formy prvků za nepřítomnosti kyslíku (to je pro teorii SLiME klíčové), ústřední roli hraje voda, která se ujímá role oxidantu (u radiolýzy spíše radikály z ní vzniklé). Energie, kterou si žádá rozklad molekuly vody, je v obou dvou případech uvolňována z geologických pochodů, které probíhají bez ohledu na množství dopadajícího slunečního záření. Při serpentinizaci není ovšem primárním zdrojem jaderná energie, ale stále přísuny magmatického tepla související s prostředím, kde tento děj probíhá (Allen et al. 2004).

Serpentinizace se uskutečňuje za vyšších teplot (100-500°C) a teplota při které alterace probíhá má vliv na obsah kovů a SiO₂ ve fluidu, případně na jeho pH (Allen et al. 2004). Výsledkem serpentiniizačních reakcí je silně redukční prostředí. V případě, že je přítomen oxid uhličitý nebo uhelnatý, je termodynamicky zvýhodněná jeho redukce. Biotická redukce je omezená teplotou na rozdíl od té abiotické. Abiotický vznik uhlovodíků s krátkým řetězcem včetně metanu je realizován prostřednictvím tzv. Fisher-Tropshových reakcí, které jsou již poměrně dlouho laboratorně prokázané, a mohou mít i značný význam v serpentiniizačním prostředí (Proskurowski et al. 2008). Z hlediska SLiME jako ekosystémů nezávislých na fotosyntéze je nutno brát v potaz i tyto abioticky vzniklé uhlovodíkové řetězce. Mikroorganismy, které by je využívaly jako zdroj energie, by sice měly heterotrofní výživu, zastávaly by však přesto funkci primárních producentů biomasy.

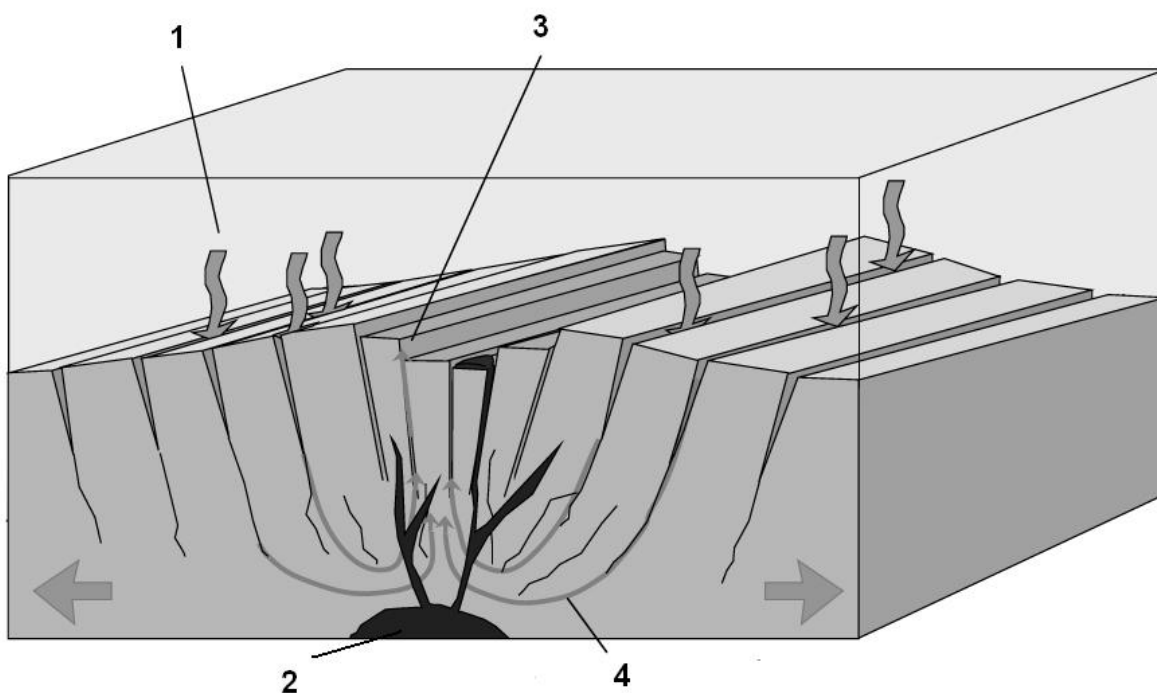
5.2.2. PROSTŘEDÍ

5.2.2.1. OCEÁNSKÁ KŮRA

Jak bylo řečeno, serpentiniizačních reakcí se účastní peridotity - horniny, které nacházíme ve svrchním plášti nebo ve spodních partiích oceánské kůry. Místa, kde dochází k jejich kontaktu s větším množstvím vody jsou omezená na oblasti, kde probíhá jejich výstup z hlubin. Takové

oblasti odpovídají divergentním rozhraním litosférických desek, jakými jsou středoocéánské hřbety s vysokým tepelným tokem, který pohání cirkulaci mořské vody (viz obr. 1). Voda se při vstupu do kůry ochudí o ionty, které obsahovala a při styku s rozžhavenou horninou pod povrchem se zahřeje, nabohatí o nové prvky a stoupá k povrchu, aby se opět „vybila“. (Humphris et al. 1995) Serpentinizační vývěry lze poznat podle několika charakteristik: Obsahují nápadně vysoké koncentrace redukovaných plynů H_2 a CH_4 v různém poměru (Keir 2010) a získávají vysoké pH díky bazické povaze v hloubce ležících alterovaných peridotitů. Při výstupu na povrch často tvoří až několik desítek vysoké komíny tvořené vysráženým kalcitem (Kelley et al. 2005). Kvůli bílým částicím kalcitu vysrážených po kontaktu fluida s mořskou vodou jsou označovány jako bílé kuřáky.

Pokud budeme chtít zjistit, zdali se v podobném prostředí nachází společenstvo SLiME, bude nutné vzorkovat pomocí vrtu serpentinizační podklad hydrotermálního systému a nikoli povrchové mikrobiální ekosystémy u vývěru, jejichž členové čerpají energii také z aerobní, či síranové oxidace vodíku. Hluběji položené vyvěřelé horniny oceánské kůry ale teprve čekají na detailnější mikrobiologický ale i geologický průzkum. I s vybavením vrtných programů (IODP) je obtížné dostat se pod bazaltovou vrstvu ke gabrům či peridotitům. Magmatické horniny leží hlouběji než sedimenty, jsou tvrdší a pokud se vyskytují v blízkosti pláště, dosahují vysokých teplot, které mohou natavovat vrtné nástroje. To představuje hlavní omezení v jejich průzkumu oceánským vrtným programem. V celé této oblasti mohou být přítomné serpentinizované jednotky. První vrtná výprava, která se zaměřila na vzorkování gabrové vrstvy pod bazalty s cílem určit převládající mikrobiální metabolismus, byla uskutečněna v Atlantickém masivu teprve v roce 2010. (Mason et al. 2010) Není možné očekávat jednoznačné výsledky od průzkumu, který je teprve v počátcích. S tím, co se odehrává v mikrobiálních společenstvech v hloubkách oceánské kůry tam, kde to ještě dovolí teplota, se zatím můžeme seznámit pouze pomocí méně reprezentativních hydrotermálních vývěrů.



Obr. 1 Hydrotermální systém středooceánského hřbetu, šipky naznačují směr rozestupování se litosférických desek. 1. Mořská voda vstupující do zlomů v bazaltovém dně, 2. Magmatický krb, ze kterého vystupují bazaltové žíly 3. Vývěry hydrotermálních fluid, 4. Cirkulující ohřátá fluida alterující horniny.

Zdroj: obrázek: <http://www.gly.uga.edu/>

5.2.2.2. OFIOLITY

Také v rámci kontinentu existují alterované peridotity. Mafické horniny oceánské kůry sem mohou být zavlečeny během orogeneze či riftogeneze, proto i zde můžeme očekávat serpentinizační procesy (Dilek a Furnes 2011). Fluida, která kolují pevninským systémem, bývají zpravidla meteorického původu a obsahují tudíž méně rozpuštěných anorganických látek, kromě případů, kdy je do hornin uvězněna mořská voda. Absence síranů, které mají své kořeny ve fotosyntéze, by mohla částečně umožnit přítomnost na fotosyntéze nezávislých SLiME v serpentinizačním prostředí na kontinentu.

5.2.3. PRIMÁRNÍ PRODUKCE V SERPENTINIZAČNÍCH PROSTŘEDÍCH

Většina studií, které se zabývají charakteristikou mikrobiálních společenstev v serpentinizačních oblastech, čerpá informace ze vzorků vyvěrajících vod nebo z povlaků na stěnách kuřáků (viz kap. 5.2.3.1.; 5.2.3.2 a 5.2.3.3). Vrtání do větších hloubek, než jsou první desítky centimetrů, vyžaduje techniku IODP, takový přístup se týká pouze kapitoly 5.2.4.

5.2.3.1. FERMENTACE JAKO PRIMÁRNÍ PRODUKCE

Jednoduché uhlovodíky jsou vhodným zdrojem energie i v redukovaném prostředí, kde je nedostatek akceptorů elektronů. Mohou sloužit jako substrát pro fermentující bakterie. V serpentizačně aktivních kuřácích v Lost City (Středoatlantský rift) existují mikroorganismy, příbuzné bakteriím ze skupiny *Clostridiales* (Brazelton et al. 2010), které umí při pěstování v kulturách fermentovat krátké uhlovodíky. Fylogenetický rozbor společenstva je nicméně třeba doplnit nálezem funkčních genů pro daný metabolismus. Zjištění fermentace *in situ* ve vývěrech ze serpentizačních lokalit dosud čeká na svou realizaci (Schrenk et al. 2013). Je zajímavé si uvědomit, že fermentační bakterie na těchto místech mohou hrát roli producentů biomasy, jaké hledáme pro SLiME, za předpokladu, že jsou organické látky abiotického původu - vznikají Fisher-Tropschovou redukcí (Proskurowski et al. 2008). *Clostridia* jsou nejvíce početná v nejmladších, tedy nejvíce hydrotermálně aktivních kuřácích. Abychom potvrdili hypotézu využívání abiotických uhlovodíků, bylo by nutné porovnat izotopové vzory, které se vytvářejí abiotickým mechanismem v laboratoři s izotopovým složením uhlovodíků v tom samém přirozeném systému, kde nacházíme také fermentátory. Krátké uhlovodíky včetně metanu totiž mohou rovněž vznikat tepelným rozkladem delších, fotosyntézou vyprodukovaných uhlovodíků (Proskurowski et al. 2008). Při odebrání vzorků pro ověření hypotézy nezávislosti na fotosyntéze je velice důležité zaměřit se na stejné vývěry v jednom čase a je nutné odebrat současně vzorky pro biologické i geochemické typy rozborů. Při mikrobiologickém rozboru společenstva SLiME není vhodné opírat se například o starší geochemická data, neboť systém (zvláště ten hydrotermální) může být časově proměnný.

5.2.3.2. METANOGENEZE JAKO PRIMÁRNÍ PRODUKCE

Běžným a nejvíce diskutovaným anaerobním procesem, který využívá vodík jako zdroj energie, je jeho oxidace oxidem uhličitým za vzniku metanu. Serpentinizace poskytuje na některých lokalitách řádově mM koncentrace vodíku (Charlou et al. 2002). Tomu odpovídají metabolické charakteristiky mikrobiálních společenstev žijících v prostředí ovlivněném ultramafickými horninami. Oproti bazaltovému ekosystému, který neprodukuje příliš mnoho redukovaných látek, dominují v serpentizačních vývěrech striktně anaerobní metanogenní archea (Flores et al. 2011).

Typickým příkladem je archeální skupina *Methanococcales*, jejíž zástupci rostou hypertermofilně na vodíku. Takai et al. (2004) zjistil ve vzorcích ze serpentizačního vývěru v Indickém oceánu jejich 70% převahu pomocí kultivačně nezávislých metod. Metanogeneze,

pomocí níž získávají archea energii, je na tomto místě významným procesem. Metan ve fluidech totiž vykazuje ochuzení izotopu uhlíku ^{13}C , což nasvědčuje jeho biogennímu původu. V podpovrchových částech, ze kterých voda vyvěrá, je pravděpodobně využívání vodíku při metanogenezi ještě výraznější – ovšem pouze v těch místech, kde je vyhovující teplota. Voda přímo z vývěru má totiž teplotu cca 300 °C (Takai et al. 2004). V rámci hydrotermálních systémů existuje pravděpodobně určitá teplotní variabilita - lokálně se vyskytují chladnější místa, která umožní aktivní mikrobiální růst. Takai et al. (2008) uvádí, že je možné úspěšně kultivovat hydrogenotrofní kmen *Methanopyrus kandleri* za zvýšeného tlaku (20MPa) při teplotě 122°C, což je krajní teplota pro jeho aktivní metabolickou činnost. Nepředpokládá se, že by *Archaea* v přirozeném prostředí tolerovala výrazně vyšší teploty.

Na povrchu vývěru se pak přidávají termofilové využívající energeticky výhodnější oxidanty jako je síra (např. skupina *Thermococcales*), která patrně vznikla redukcí síranů z mořské vody.

V případě 300 °C hydrotermálního vývěru, který se nachází na tektonicky aktivním oceánském riftu (DeMets et al. 1988), se nepovažuje za pravděpodobné, že by podstatný podíl vodíku pocházel z fermentačních procesů. Není tedy nezbytné provádět izotopové analýzy původu vodíku.

5.2.3.3. OXIDACE VODÍKU ŽELEZEM JAKO PRIMÁRNÍ PRODUKCE

Při serpentinizaci vznikají oxidované formy prvků, které mohou sloužit při anaerobní respiraci jako finální akceptory elektronů. Jedná se o $\text{Fe}^{+\text{III}}$, které vzniká oxidací prostřednictvím vody z $\text{Fe}^{+\text{II}}$ ve fayalitu (Oze a Sharma 2005). Pokud by v hydrotermálních vývěrech na alterovaných peridotitech existovala litoautotrofní společenstva rostoucí na principu oxidace vodíku železem, bylo by možné je řadit rovněž mezi primární producenty takových systémů, protože oba dva vznikají na místě anoxickou oxidací peridotitu.

Některá ultramafická hydrotermální pole obsahují ve fluidech vysoký podíl železa, které tvoří na vrcholu vývěru vysrážené oxidy. Takové prostředí by bylo vhodné pro železo redukující chemolitotrofní mikroorganismy. Jedním z mála mikroorganismů izolovaných z podobných prostředí je *Geoglobus acetivorans*, archeon pocházející ze Středoatlantského riftu ze serpentinové lokality Ashadze. Tento termofil roste pomocí anaerobní oxidace vodíku trojmocným železem (ve formě částečně krystalického oxidu) a oxidem uhličitým jako jediným zdrojem uhlíku. Umí nicméně také využívat acetát jako zdroj elektronů i uhlíku (Slobodkina et al. 2009). Jemu příbuzné mikroorganismy ze skupiny *Archeaeglobales* hrají

důležitou roli při cirkulaci vodíku a jsou známy i z jiných hydrotermálních oblastí (Roussel et al. 2011).

V tomto případě nejsou geochemicky podloženy obsahy a původy substrátů v místě, odkud byl *G. acetivorans* izolován, není ani metagenomicky řešeno jeho poměrné zastoupení v rámci ostatních mikroorganismů. V kompilačních pracích týkajících se mikrobiálního metabolismu a serpentitizace jako např. Schrenk et al. (2013), nevěnují autoři litotrofní redukci železa pozornost. Je možné, že tento metabolismus opravdu nehraje zásadní roli při litoautotrofní primární produkci na serpentinitech. Myslím si ale, že je částečně zanedbávaný v důsledku velkého zájmu o neustále diskutovaná metanogenní archea.

5.2.4. VRTY DO MAGMATITŮ OCEÁNSKÉHO DNA

První pátrání po mikrobiálních aktivitách v oblasti středooceánských riftových zón v hlubších vrstvách bazaltového pokryvu a zejména pod ním ležícího gabra (viz obr. I) bylo realizováno teprve před nedávnou dobou v Středoatlantském riftu (Mason et al. 2010). Jedná se o pravděpodobně jedinou analýzu, která se nezaměřuje na vývěry a zkoumá prostory blízko serpentinitizační oblasti přímo pod povrchem pomocí vrtu.

Studie se zaměřila na analýzy rRNA a detekci funkčních genů pro jednotlivé metabolické pochody. Na základě korespondence fylogenetického a funkčně-genetického přístupu byly vyvozeny převládající metabolické aktivity ve vzorcích ze dvou hloubek (cca 450m a 700m). Dominantním zdrojem energie je kupodivu degradace organického uhlíku v obou dvou případech (34 respektive 45%). Metanogenní archea využívající vodík ze serpentinitizace, která bychom v prostředí blízko riftového údolí (15 km) očekávali, nebyla vůbec detekována. Rovněž podíl metanotrofní respirace se pohyboval okolo několika procent.

Lze to vysvětlit jednoduše tím, že serpentinitizované peridotity existují na této lokalitě pouze do hloubek okolo 300m (Mason et al. 2010). Pokud by zde byl serpentinitizační proces ještě aktivní (to není vzhledem k nízkým teplotám podkladu reálné – v hloubce 1000m $T=54^{\circ}\text{C}$) a produkoval by dostatečné množství vodíku, mělo by smysl očekávat hydrogenotrofní mikroorganismy pouze v horninách nad výskytem peridotitů. V těchto hloubkách ovšem nebyly odebrány žádné vzorky s cílem stanovit metabolické schopnosti mikroorganismů, protože studie byla zaměřená především na mikrobiální ekosystémy v gabrech.

Primární producenti závislí na vodíku ze serpentinitizace zde nehrají prakticky žádnou roli. Důležitou okolností je, že svrchních 800m je prostoupeno mořskou vodou, jak vyplývá z izotopových analýz stroncia a síry (Delacour et al. 2008a). Mořská voda je nositelem organického uhlíku jako hlavního zdroje energie na zkoumaném místě. Oxidanty přinášenými

vodou jsou sulfáty, nitráty nebo dokonce kyslík – využívání takových akceptorů elektronů místními bakteriemi je podloženo geneticky (Mason et al 2010).

Na vrtu do gabrového podkladu (Mason et al. 2010) se také ukázalo, jak důležitý je fyzický vstup do podzemí z hlediska geologického – lze takto určit přesnou hloubku serpentinizovaných jednotek a z toho pak vyvozovat přítomnost serpentinizací vzniklých substrátů pro SLIME, které se pak mohou vyskytovat pouze v konkrétní oblasti vertikálního profilu v závislosti na směru cirkulujícího fluida

5.2.5. RŮZNORODOST HYDROTERMÁLNÍHO SYSTÉMU – VÍCE TYPŮ EKOSYSTÉMŮ

Mluvit o dynamickém serpentinizačním prostředí jako o jednom jednoduchém mikrobiálním ekosystému není příliš vhodné. Je lepší zvolit podobný přístup jakým je například makroekologický popis ekosystémů říčních sítí. Nikdo se patrně nepozastaví nad rozdíly v charakteru pramenné oblasti, dolního toku nebo říční deltě. Přestože nemůžeme stanovit přesně hranici přechodu jednoho režimu do druhého, má smysl popisovat každý zvlášť. Stejně tak se v hydrotermálním systému mění chemismus, teplota a s tím i mikrobiální složení. Uvědomuji si, že podobný přístup k mikrobiálnímu ekosystému není dostatečně empiricky podložen, nicméně ze studie Mason et al. (2010) je možné čerpat první informace o metabolismu v hlubších částech kůry blízko serpentinizačních oblastí a složení mikrobiálních společenstev mnohých serpentinizačních vývěrů je předmětem bádání již několik let (Takai et al. 2004, Brazelton et al. 2006, Brazelton et al. 2010 a další). Princip hydrotermálních vývěrů mořského dna popisuje Humphris et al. (1995). Interpretací těchto prací můžeme dospět k následujícímu cyklu:

- I) Mořská voda vsakující se do oceánského dna (ať už do sedimentů, nebo do vyvřelých hornin) obsahuje sírany, případně kyslík a různé množství organických látek. Organická složka je v této oblasti prodýchávána pomocí oxidantů, které pocházejí z mořské vody - jejich vznik je spjat s oxygenní fotosyntézou. V této zóně „vsaku“ mikrobiální ekosystémy neodpovídají typu SLiME.
- II) Jak voda klesá, interaguje s vulkanity oceánské kůry, ztrácí sírany a hořčík a obohacuje se o vápník (Edwards et al. 2003). Voda zbavená produktů fotosyntézy se pak v hlubších částech kůry (stovky až tisíce metrů – záleží na blízkosti zdroje tepla v konkrétní oblasti) zahřívá na cca 400 °C a obohacuje se o další složky (H₂, H₂S, SiO₂, CH₄, kovy) reakcemi s ultramafickými horninami (Humphris et al. 1995). V této fázi se ve fluidech kvůli vysoké teplotě nenacházejí pravděpodobně žádné živé mikroorganismy.

- III) Nakonec stoupá horké fluidum opět k povrchu dna (jinou cestou). V místech, kde je přiměřeně teplé (okolo 100°C) a kam nemohla vniknout dosud nepřečištěná mořská voda, je možné očekávat na fotosyntéze nezávislý SLiME, jehož zbytky se u vývěru mísí s mořskou vodou a dávají vznik třetímu typu ekosystému.
- IV) Poslední typ ekosystému je metabolicky velmi pestrý kvůli mísení redukováných složek vývěru a mořské vody. Je také nejlépe prozkoumaný, protože k odběru vzorků není potřeba těžké vrtné techniky. Zahrnuje archeální společenstva rostoucí jak pomocí metanogeneze (*Methanosarcinales*), která jsou častou součástí povlaků uvnitř kuřáku, kde je málo kyslíku a teplota vyšší než cca 80°C, tak anaerobní metanotrofy využívající sulfát (Brazelton et al. 2010), nebo různé aerobní mikroorganismy na vnějších stěnách komínu živící se vodíkem či přitékající organickou hmotou.

Tyto povrchové serpentizační mikrobiální ekosystémy (IV) jsou nejčastějším předmětem výzkumu a vzkvétají díky oběma typům primární produkce – jak té fotosyntetické, tak té fotosynteticky nezávislé chemolitotrofní – nejčastěji metanogenní (možná i za přispění fermentace viz 5.2.3.1., či oxidace vodíku $\text{Fe}^{+\text{III}}$ viz 5.2.3.3). Nenarazit na metabolismus využívající fotosyntetický kyslík nebo sírany ovšem u povrchu vývěru se strmými redoxními gradienty, není možné. Ve fluidu obsahujícím redukované plyny se po kontaktu s okolní vodou dávají do chodu aerobní respirační řetězce oxidující metan a vodík aerobně nebo pomocí sulfátů. Běžná jsou například sulfát redukující anaerobní metanotrofní archea. Na povrchu nejsou výjimkou mikroorganismy, které oxidují metan či vodík přímo pomocí kyslíku (Roussel et al. 2011).

Existují však i případy (Takai et al. 2004), kdy se povrchový ekosystém blíží charakteristikám SLiME, protože většinu mikroorganismů (70%) tvoří metanogenní *Archaea*.

Přesto nelze ekosystém vývěru jako celek považovat za SLiME. Jediné, co můžeme tvrdit je, že někteří prokaryotní členové tohoto povrchového ekosystému odpovídají metabolickým charakteristikám na fotosyntéze nezávislých organismů, které možná tvoří stopy pod povrchem ukrytého SLiME, kam se nedostane ani kyslík, ani jeho oxidativní produkty (SO_4^{2-} , NO_3^-) v důsledku jednosměrného proudění hydrotermálních fluid. Toto tvrzení však nemá žádný přímý empirický podklad, neboť vzorkování hlubokých zón hydrotermálního systému nebylo zatím uskutečněno. Systém je patrně poměrně křehký a

v případě zásahu hlubinným vrtem by byla jeho struktura narušena do té míry, že by již neodpovídala původním podmínkám.

ZÁVĚR

Vhodná prostředí pro výskyt SLiME v zemské kůře jsou nejvýznamněji omezena fyzikálními podmínkami (teplotou) směrem do hloubky a vlivem fotosyntézy směrem k povrchu. Při hledání geologických procesů produkujících zdroje energie jsme tudíž omezeni na úzkou zónu litosféry. Zdroje energie představují další významnou limitaci v prostoru zemské kůry. Z informací, které jsou v současnosti k dispozici, vyplývá, že jediné dostatečně prozkoumané procesy, které mohou udržet metabolismus SLiME, je serpentinizace a radiolýza vody. Jak radiolýza (např. Kieft et al. 2005, Lin et al. 2006, Chivian et al. 2008) tak serpentinizace (např. Schrenk et al. 2013, Roussel et al. 2011, Brazelton et al. 2012) produkují dostatečné množství vodíku jako zdroje elektronů a v obou dvou prostředích je možné zároveň nalézt i vhodné oxidanty nefotosyntetického původu.

Při popisu serpentinizačních míst jako akosystémů SLiME se vychází z dat získaných z hydrotermálních vývěrů na divergentních rozhraních. V takovém systému nelze ale vyloučit přítomnost oxygenně fotosyntetických produktů, neboť mořská voda obsahující sírany proniká skrz litosféru až do míst, kde jsou příliš vysoké teploty i pro hypertermofilní mikroorganismy (200-500 °C). Jediným místem, kde mořská voda neobsahuje žádné své původní složky kvůli teplotnímu přečištění, jsou zóny hydrotermálních výstupů ohřátých fluid. V těchto částech systému před vývěrem na povrch lze očekávat SLiME. Přímý vstup pomocí vrtu do nitra hydrotermálního serpentinizačního systému s sebou nese riziko narušení původní cirkulace vod a zkreslení získaných výsledků, nehledě na estetickou stránku věci lokalit jako je hydrotermální pole v Lost City. Existence SLiME v těchto místech není dostatečně prokázána.

Vzhledem k těmto komplikacím má větší perspektivu hledání SLiME v hlubokém kontinentálnímu prostředí, které má oproti oceánu z hlediska SLiME několik výhod. (I) Kontinentální vody mají obecně nižší obsah síranů nežli více mineralizovaná mořská voda. (II) Vertikálně je zóna s příhodnými teplotami pro život je na kontinentu mocnější – je tudíž možné vzdálit se více od zemského povrchu. (II) Radiolýza vody jako hlavní zdroj energie a oxidantů pro SLiME na kontinentu není proces tak prostorově omezený jako serpentinizace a není spojen s vysoce dynamickým prostředím, které je složité postihnout, pokud chceme vyloučit vliv fotosyntetických produktů.

První radiolytické společenstvo SLiME na kontinentu byl popsáno v práci Chivian et al. (2008). Není ale dosud jasné, zda je podobný ekosystém obecně rozšířeným jevem. Vzhledem k dostačujícímu instrumentálnímu vybavení je především žádoucí zaměřit se na získání většího množství empirických dat i z jiných lokalit než je pánve Witwatersrand a provádět geochemické analýzy v souladu s mikrobiologickým přístupem.

LITERATURA

Ahrens, T.J. (1995) podlé Karatekin O., De Viron O., Lambert S., Dehant V., Rosenblatt P., Van Hoolst T., Le Maistre S. (2010): Atmospheric angular momentum variations of Earth, Mars and Venus at seasonal time scales. *Planetary and Space Science* 59: 923–933

Allen D.E., Seyfried W.E. ml. (2004): Serpentinization and heat generation: Constraints from Lost City and Rainbow hydrothermal systems. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 68 (6): 1347–1354

Baker B.J., Banfield J.F. (2003): Microbial communities in acid mine drainage. *FEMS Microbiol Ecol* 44 (2): 139–152

Barnes I., O’Neil J. R., Trescases J.J. (1978): Present day serpentinization in New Caledonia, Oman and Yugoslavia. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 42: 144-145

Baross J.A., Benner S.A., Cody G.D., Copley S.D., Pace N.R., Scott J.H., Shapiro R., Sogin M.L., Stein J.L., Summons R., Szostak J.W. (2007): The Limits of Organic Life in Planetary Systems. ISBN: 0-309-66906-5, 116 str.

Berkner L. V, Marshall L. L. (1964): The history of oxygenic concentration in the Earth’s atmosphere. *Discussions of the Faraday Society* 37: 122 -141

Blair C.C., D’Hondt S., Spivac A.J., Kingsley R.H. (2007): Radiolytic Hydrogen and Microbial Respiration in Subsurface Sediments. *Astrobiology* 7 (6): 951-970

Boettger J., Lin H.T., Cowen J.P., Hentscher M., Amend J.P. (2013): Energy yields from chemolithotrophic metabolisms in igneous basement of the Juan de Fuca ridge flank system. *Chemical Geology* 337–338: 11–19

Brazelton W.J., Schrenk M.O., Kelley D.S., Baross J.A. (2006): Methane- and Sulfur-Metabolizing Microbial Communities Dominate the Lost City Hydrothermal Field Ecosystem. *Applied and Environmental Microbiology* 72 (9): 6257–6270

Brazelton W.J., Ludwiga, K.A., Sogin M.L., Andreishcheva E.N., Kelley D.S., Shen Ch.Ch., Edwards R.L., Baross J.A. (2010): Archaea and bacteria with surprising microdiversity show shifts in dominance over 1,000-year time scales in hydrothermal chimneys. *PNAS* 107 (4): 1612–1617

Brazelton W.J., Nelson B., Schrenk M.O. (2012): Metagenomic evidence for H₂ oxidation and H₂ production by serpentinite-hosted subsurface microbial communities. *Frontiers in Microbiology* 2 (268): 1-16

Clauser R. a Huenges E. (1995) podle Jones E.G. a Lineweaver Ch. H. (2010): To What Extent Does Terrestrial Life “Follow The Water”? *Astrobiology* 10 (3): 349-361

Colwell F.S., D’Hondt S. (2013): Nature and Extent of the Deep Biosphere. *Reviews in Mineralogy & Geochemistry* 75: 547-574

D’Hondt S., Spivack A.J., Pockalny R., Ferdelman T.G., Fischer J.P., Kallmeyer J., Abrams L.J., Smith D.C., Graham D., Hasiuk F., Schrum H., Stancin A.M. (2009): Subseafloor sedimentary life in the South Pacific Gyre. *PNAS* 106 (28): 11651–11656

D’Hondt S., Jørgensen B.B., Miller D.J., Batzke A., Blake R., Cragg B.A., Cypionka H., Dickens G.R., Ferdelman T., Hinrichs K.U., Holm N.G., Mitterer R., Spivack A., Wang G., Bekins B., Engelen B., Ford K., Gettemy G., Rutherford S.D., Sass H., Skilbeck C.G., Aiello I.W., Guérin G., House Ch.H, Inagaki F., Meister P., Naehr T., Niitsuma S., Parkes R.J., Schippers A., Smith D.C., Teske A., Wiegel J., Padilla Ch.N., Acosta J.L.S. (2004): Distributions of Microbial Activities in Deep Subseafloor Sediments. *Science* 306: 2216-2221

Delacour A., Früh-Green G.L., Frank M., Gutjahr M., Kelley D.S. (2008a): Sr- and Nd-isotope geochemistry of the Atlantis Massif (30°N, MAR): Implications for fluid fluxes and lithospheric heterogeneity. *Chemical Geology* 254: 19–35

DeMets C., Gordon R.G., Argus D.F. (1988) podle Takai K., Gamo T., Tsunog U., Nakayama N., Hirayama H., Nealson K.H., Horikoshi K. (2004): Geochemical and microbiological evidence for a hydrogen based, hyperthermophilic subsurface lithautotrophic

microbial ecosystems (HyperSLiME) beneath an active deep-sea hydrothermal field. *Extremophils* 8: 269-282

Dilek Y., Furnes H. (2011): Ophiolite genesis and global tectonics: Geochemical and tectonic fingerprinting of ancient oceanic lithosphere. *GSA Bulletin* 123 (3/4): 387-411

Dong H. (2010): Mineral-microbe interactions: a review. *Front. Earth Sci. China* 4(2): 127–147

Draganic I.G., Draganic Z.D. (1971) podle Blair C.C., D'Hondt S., Spivac A.J., Kingsley R.H. (2007): Radiolytic Hydrogen and Microbial Respiration in Subsurface Sediments. *Astrobiology* 7 (6): 951-970

Edwards K.J., Bach W., Rogers D.R. (2003): Geomicrobiology of the Ocean Crust: A Role for Chemoautotrophic Fe-Bacteria. *Biol Bull* 204: 180-185

Edwards K.J., Becker K., Colwell F. (2012): The Deep, Dark Energy Biosphere: Intraterrestrial Life on Earth. *Annual Review of Earth and Planetary Sciences* 40: 551–568

Flores G.E., Campbell J.H., Kirshtein J.D., Meneghin J., Podar M., Steinberg J.I., Seewald J.S., Tivey M.K., Voytek M.A., Yang Z.K., Reysenbach A.L. (2011): Microbial community structure of hydrothermal deposits from geochemically different vent fields along the Mid-Atlantic Ridge. *Environmental Microbiology* 13(8): 2158–2171

Frederickson J.K., McKinley J.P., Bjornstad B.N., Long P.E., Ringelberg D.B., White D.C., Krumholz L.R., Suflita J.M., Colwell F.S., Lehman R.M., Phelps T.J., Onstott T.C., (1997): Pore-size constraints on the activity and survival of subsurface bacteria in a late cretaceous shale-sandstone sequence, northwestern New Mexico. *Geomicrobiology Journal* 14: 183-202

Garrett B.C., Dixon D.A., Camaioni D.M., Chipman D.M., Johnson M.A., Jonah Ch.D., Kimmel G.A., Miller J.H., Rescigno T.N., Rossky P.J., Xantheas S.S., Colson S.D., Laufer A.H., Ray D., Barbara P.F., Bartels D.M., Becker K.H., Bowen K.H., Bradforth S.E., Carmichael I., Coe J.V., Corrales L.R., Cowin J.P., Dupuis M., Eiseenthal K.B.,

Franz J.A., Gutowski M.S. et al. (2005): Role of Water in Electron-Initiated Processes and Radical Chemistry: Issues and Scientific Advances. *Chemical Reviews* 105 (1): 355-390

Hoehler T., Amend J., Shock E. (2007): A “follow the energy” approach for astrobiology. *Astrobiology* 7: 819-823

Humphris S. E., Zierenberg R.A., Mullineaux L. S., Thomson R. E., eds. (1995): Seafloor Hydrothermal Systems: Physical, Chemical, Biological, and Geological Interactions. AGU Monograph Series, No. 91. American Geophysical Union, Washington, DC: stáhnuta zkráčená verze z kapitól: Subseafloor processes in mid-ocean ridge hydrothermal systems, The magnitude and global implications of hydrothermal flux, Chemical and biochemical transformations in hydrothermal plumes, Heat flow and hydrothermal circulation, Controls on the chemistry and temporal variability of seafloor hydrothermal fluids, 8.5.2013 12:15, zdroj: http://ocw.mit.edu/courses/earth-atmospheric-and-planetary-sciences/12-742-marine-chemistry-fall-2006/lecture-notes/lec_9_redngs_hyd.pdf

Huston D.L., Logan G.A. (2004): Barite, BIFs and bugs: Evidence for the evolution of the Earth’s early hydrosphere. *Earth and Planetary Science Letters* 220: 41-55

Chapelle F. H., O'Neill K., Bradley P.M., Methe B.A., Ciufo S.A., Knobel L.L., Lovley D.R. (2002): A hydrogen-based subsurface microbial community dominated by methanogens. *Nature* 415: 312-315

Charlou J.L., Donval J.P., Fouquet Y., Jean-Baptiste P., Holm N. (2002): Geochemistry of high H₂ and CH₄ vent fluids issuing from ultramafic rocks at the Rainbow hydrothermal field (36°14'N, MAR). *Chemical Geology* 191: 345-359

Chivian D., Brodie E.L., Alm E.J., Culley D.E., Dehal P.S., DeSantis T.Z., Gihring T.M., Lapidus A., Lin L.H., Lowry S.R., Moser D.P., Richardson P.M., Southam G., Wanger G., Pratt L.M., Andersen G.L., Hazen T.C., Brockman F.J., Arkin A.P., Onstott T.C. (2008): Environmental Genomics Reveals a Single-Species Ecosystem Deep Within Earth. *Science* 322: 275-278

Ivanov M.V. a Karavaiko G.I. (2004): Geological Microbiology. Microbiology 73 (5): 493-508

Jones E.G. a Lineweaver Ch. H. (2010): To What Extent Does Terrestrial Life ‘‘Follow The Water’’?. Astrobiology 10 (3): 349-361

Jørgensen B.B., D’Hondt S.L., Miller D.J. (2006): 1. LEG 201 Synthesis: Controls on Microbial Communities in Deeply Buried Sediments. Proceedings of the Ocean Drilling Program, Scientific Results 201: 1-45

Keir R.S. (2010): A note on the fluxes of abiogenic methane and hydrogen from mid-ocean ridges. Geophysical Research Letters 37: L24609

Kelley D.S., Karson J.A., Früh-Green G.L., Yoerger D.R., Shank T.M., Butterfield D.A., Hayes J.M., Schrenk M.O., Olson E.J., Proskurowski G., Jakuba M., Bradley A., Larson B., Ludwig K., Glickson D., Buckman K., Bradley A.S., Brazelton W.J., Roe K., Elend M.J., Delacour A., Bernasconi S.M., Lilley M.D., Baross J.A., Summons R.E., Sylva S.P. (2005): A Serpentinite-Hosted Ecosystem: The Lost City Hydrothermal Field. Science 307: 1428-1434

Kieft T.L., McCuddy S.M., Onstott T.C., Davidson M., Lin L.H., Mislowack B., Pratt L., Boice E., Lollar B.S., Lippmann-Pipke J., Piffner S.M., Phelps T.J., Gihring T., Moser D., Van Heerden A. (2005): Geochemically Generated, Energy-Rich Substrates and Indigenous Microorganisms in Deep, Ancient Groundwater. Geomicrobiology Journal 22: 325–335

Lefticariu L., Pratt L.A., LaVerne J.A., Schimmelmann A. (2010): Anoxic pyrite oxidation by water radiolysis products - A potential source of biosustaining energy. Earth and Planetary Science Letters 292: 57–67

Lin L.H., Slater G.F., Lollar B.S., Lacrampe-Couloume G., Onstott T.C. (2005a): The yield and isotopic composition of radiolytic H₂, a potential energy source for the deep subsurface biosphere. Geochimica et Cosmochimica Acta 69 (4): 893–903

Lin L.H., Hall J., Lippmann-Pipke J., Ward J.A., Lollar B.S., DeFlaun M., Rothmel R., Moser D., Gihring T.M., Mislouack B., Onstott T.C. (2005b): Radiolytic H₂ in continental crust: Nuclear power for deep subsurface microbial communities. *Geochem. Geophys. Geosyst.* 6 (7): 1-13

Lin L.H., Wang P.L., Rumble D., Lippmann-Pipke J., Boice E., Pratt L.M., Lollar B.S., Brodie E.L., Hazen T.C., Andersen G.L., DeSantis T.Z., Moser D.P., Kershaw D., Onstott T.C. (2006): Long-Term Sustainability of a High-Energy, Low-Diversity Crustal Biome. *Science* 314: 479-482

Lippman J., Stute M., Torgersen T., Moser D.P., Hall J.A., Lin L., Borcsik M., Bellamy R.E.S., Onstott T.C. (2003): Dating ultra-deep mine waters with noble gases and ³⁶Cl, Witwatersrand Basin South Africa. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 67 (23): 4597–4619

Lovley D.R. (1991): Dissimilatory Fe(III) and Mn(IV) Reduction. *Microbiological Reviews* 55 (2): 259-287

Mason O.U., Nakagawa T., Rosner M., Van Nostrand J.D., Zhou J., Maruyama A., Fisk M.R., Giovannoni S.J. (2010): First Investigation of the Microbiology of the Deepest Layer of Ocean Crust. *PLoS ONE* 5(11): e15399

Mulkidjanian A.Y., Bychkov A.Y., Dibrova D.V., Galperin M.Y., Koonin, E.V. (2012): Origin of first cells at terrestrial, anoxic geothermal fields. *PNAS USA* 109 (14): E821-E830

Nealson K.H., Inagaki F., Takai K. (2005): Hydrogen-driven subsurface lithoautotrophic microbial ecosystems (SLiMEs): Do they exist and why should we care?. *TRENDS in Microbiology* 13 (9): 405-410

Nercessian O.N., Bienvenu N., Moreira D., Prieur D., Jeanthon Ch. (2005): Diversity of functional genes of methanogens, methanotrophs and sulfate reducers in deep-sea hydrothermal environments. *Environmental Microbiology* 7 (1): 118-132

Ohmura N., Sasaki K., Matsumoto N., Saiki H. (2002): Anaerobic Respiration Using Fe^{3+} , S^0 , and H_2 in the Chemolithoautotrophic Bacterium *Acidithiobacillus ferrooxidans*. Journal of Bacteriology 184 (8): 2081–2087

Oze Ch., Sharma M. (2005): Have olivine, will gas: Serpentinization and the abiogenic production of methane on Mars. Geophysical Research Letters 32: 1-4

Pastina B., LaVerne J.A. (2001): Effect of Molecular Hydrogen on Hydrogen Peroxide in Water Radiolysis. Journal of Physical Chemistry A 105: 9316-9322

Pedersen K. (1997): Microbial life in deep granitic rock. FEMS Microbiology Reviews 20: 399-414

Proskurowski G., Lilley M.D., Seewald J.S., Früh-Green G.L., Olson E.J., Lupton J.E., Sylva S.P., Kelley D.S. (2008): Abiogenic Hydrocarbon Production at Lost City Hydrothermal Field. Science 319: 604-607

Robb L.J., Meyer F.M. (1995): The Witwatersrand Basin, South Africa: Geological framework and mineralization processes. Ore Geology Reviews 10: 67-94

Roussel E.G., Konn C., Charlou J.L., Donval J.P., Fouquet Y., Querellou J., Prieur D., Bonavita M.A.C. (2011): Comparison of microbial communities associated with three Atlantic ultramafic hydrothermal systems. FEMS Microbiol Ecol 77: 647–665

Rudnick R.L., Gao S. (2007) podle Lefticariu L., Pratt L.A., LaVerne J.A., Schimmelmann A. (2010): Anoxic pyrite oxidation by water radiolysis products - A potential source of biosustaining energy. Earth and Planetary Science Letters 292: 57–67

Schrenk M.O., Brazelton W. J. a Lang S. Q. (2013): Serpentinization, carbon, and deep life. Reviews in Mineralogy & Geochemistry 75: 575-606

Skulachev V.P. (1989): The sodium cycle: A novel type of bacterial energetics. Journal of Bioenergetics and Biomembranes 21 (6): 635-647

Sleep N.H., Meibom A., Fridriksson T., Coleman R.G., Bird D.K. (2004): H₂-rich fluids from serpentinization: Geochemical and biotic implications. PNAS USA 101 (35): 12818-12823

Slobodkina G.B., Kolganova T.V., Querellou J., Bonch-Osmolovskaya E.A., Slobodkin A.I. (2009): *Geoglobus acetivorans* sp. nov., an iron(III)-reducing archaeon from a deep-sea hydrothermal vent. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 59: 2880–2883

Smith D.C., Spivack A.J., Fisk M.R., Haveman S.A., Staudigel H. (2000): Tracer-Based Estimates of Drilling-Induced Microbial Contamination of Deep Sea Crust. Geomicrobiology Journal 17: 207-219

Smith, P. (1973) podle Jones E.G. a Lineweaver Ch. H. (2010): To What Extent Does Terrestrial Life “Follow The Water”? Astrobiology 10 (3): 349-361

Spinks J.W.T., Woods R.J. (1990) podle Blair C.C., D'Hondt S., Spivack A.J., Kingsley R.H. (2007): Radiolytic Hydrogen and Microbial Respiration in Subsurface Sediments. Astrobiology 7 (6): 951-970

Stevens T.O. a McKinley J.P. (1995): Lithoautotrophic microbial ecosystems in deep basalt aquifers. Science, New Series 270 (5235): 450-454

Stuglik Z., Zagorski Z.P. (1981): Pulse Radiolysis of Neutral Iron(II) Solutions: Oxidation of Ferrous Ions by OH Radicals. Radiation Physics and Chemistry 17: 229-233

Takai K., Gamo T., Tsunog U., Nakayama N., Hirayama H., Nealson K.H., Horikoshi K. (2004): Geochemical and microbiological evidence for a hydrogen based, hyperthermophilic subsurface lithoautotrophic microbial ecosystems (HyperSLiME) beneath an active deep-sea hydrothermal field. Extremophils 8: 269-282

Takai K., Nakamura K., Toki T., Tsunogai U., Miyazaki M., Miyazaki J., Hirayama H., Nakagawa S., Nunoura T., Horikoshi K. (2008): Cell proliferation at 122°C and isotopically heavy CH₄ production by a hyperthermophilic methanogen under high-pressure cultivation. PNAS USA 105 (31): 10949–10954

Taylor S.R., McLennan S.M. (1985) podlé Blair C.C., D'Hondt S., Spivac A.J., Kingsley R.H. (2007): Radiolytic Hydrogen and Microbial Respiration in Subsurface Sediments. *Astrobiology* 7 (6): 951-970

Ward J.A., Slater G.F., Moser D.P., Lin L.H., Lacrampe-Couloume G., Bonin A.S., Davidson M., Hall J.A., Mislowack B., Bellamy R.E.S., Onstott T.C., Lollar B.S. (2004): Microbial hydrocarbon gases in the Witwatersrand Basin, South Africa: Implications for the deep biosphere. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 68 (15): 3239–3250

Whitman W.B., Coleman D.C., Wiebe W.J. (1998): Prokaryotes: The unseen majority. *PNAS USA* 95: 6578–6583

Zhang X.V., Ellery S.P., Friend C.M., Holland H.D., Michel F.M., Schoonen M.A.A., Martin S.T. (2007): Photodriven reduction and oxidation reactions on colloidal semiconductor particles: Implications for prebiotic synthesis. *Journal of Photochemistry and Photobiology A-Chemistry*. 185 (2-3): 301-311